8432.2
6
2-1

NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

XPERIMENTELLE PATHOLOGIE UND PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG
DER DEUTSCHEN PHARMAKOLOGISCHEN GESELLSCHAFT

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. HEILMEYER
PROFESSOR DER INNEREN MEDIZIN
FREIBURG i. Br.

DR. W. HEUBNER
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
BERLIN

DR. L. LENDLE
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
GÖTTINGEN

BOSTON MEDICAL LIBRARY
MAY 8 1961

217. BAND

MIT 165 TEXTABBILDUNGEN

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1953

BOSTON
SEP 29 1953
EDICAL LIBRARY

CATALOGUED
SEP 29 1953
D.C.B.

Alle Rechte vorbehalten.
Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es auch nicht gestattet, einzelne Beiträge oder Teile daraus auf photomechanischem Wege (Photokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.
Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg
Printed in Germany.

Druck: Wiesbadener Graphische Betriebe GmbH.

Inhalt des 217. Bandes.

Seite

Ahlhelm, H. A., s. **F. Fretwurst** 382

Anders, M., W. Nieschke, H. Dahm und **R. Taugner,** Vergleichende pharmakologische Untersuchungen am ermüdeten bzw. anoxämischen und normalen Skeletmuskel 406

Basold, A., s. **H. Friebel** 216

Bayer, O., S. Effert und **R. Schunk,** Über die Wirkung von Peripherin „Homburg" auf den großen und kleinen Kreislauf. (Experimentelle Befunde beim Menschen mit der Kathedermethode) 351

Beiglböck, W., Über die Beeinflussung der Ergotamingangrän bei der Ratte durch Butylsympatol(-Vasculat) 430

Berkan, D., s. **P. Pulewka** 280

Blömer, H., s. **G. Schimert** 337

Blum, F., Studien über die Zusammensetzung der Pericardflüssigkeit . . . 1

Borsi, J., s. **F. Herr, K. Nádor** und **Gg. Pataky** 447

Boucke, H., s. **K. Brecht** 399

Brecht, K., und **H. Boucke,** Ein neuer Pulsabnehmer für Kleintiere 399

Bresgen, C., Die perkutane und permuköse Wirksamkeit des Insulins in Verbindung mit Hyaluronidase im Tierversuch 539

Dahm, H., s. **M. Anders, W. Nieschke** und **R. Taugner** 406

Dunker, E., und **W. Köhrmann,** Über die Zweckmäßigkeit einer dauernden Kontrolle der Heizenergie bei Messungen mit der Thermostromuhr . . 440

Effert, S., s. **O. Bayer** und **R. Schunk** 351

Eichler, O., und **W. Plewa,** Zur Pharmakologie einiger basischer Phenoläther, darunter solcher mit sympathicomimetischer Wirkung 153

Emmrich, R., und **H. Petzold,** Über die Wirkung des Magnetismus auf die Regeneration der Rattenleber 10

Förster, W., Zur Frage der thyreostatischen Wirkung von Rhodanid . . . 413

—, s. **H. Lüllmann** 217

Fretwurst, F., und **H. A. Ahlhelm,** Untersuchungen über den Glucuronsäure-Stoffwechsel beim Menschen nach peroraler und intravenöser Zufuhr . 382

Friebel, H., Studien am langdauernden Asthma des Meerschweinchens . . . 21

—, Über die Prüfung von Antihistaminkörpern am tierexperimentellen Asthma 35

—, und **A. Basold,** Über das steuerbare Meerschweinchenasthma 13

Frimmer, M., Eine Methode zur Bestimmung der reticulo-endothelialen Clearance für Makromoleküle mit Hilfe von ^{32}P markiertem Kalium-Natrium-Polymetaphosphat 91

—, und **H. Götte,** Kreislaufuntersuchungen am Hund mit Hilfe von ^{32}P-markiertem Kalium-Natrium-Polyphosphat 319

Seite

Ginzel, K. H., H. Klupp, O. Kraupp und **G. Werner,** Die neuromuskuläre Lähmung durch Polymethylen-bis-phosphoniumverbindungen 173

Götte, H., s. **M. Frimmer** 319

Habermann, E., s. **W. Neumann** und **H. Hansen** 130

Hansen, H., s. **W. Neumann** und **E. Habermann** 130

Habers, E., s. **K. Neumann** 64

Hartmann, F., F. Ruwe und **G. Schulze,** Der Lipoidstoffwechsel des tetrachlorkohlenstoffvergifteten Hundes unter der Wirkung von Methionin, Inositol und Invertzucker 98

Heim, F., und **H. Wagner,** Der Einfluß ganglienblockierender Mittel auf mehrere, insbesondere durch Kohlensäure ausgelöste Kreislaufreaktionen 550

Herr, F., K. Nádor, Gy. Pataky und **J. Borsi,** Untersuchungen über die lokalanästhetische Wirkung von quaternären Ammoniumbasen 447

—, **M. Nyiri** und **G. Pataky,** Messung der Leitungs- und Infiltrationsanästhesie an Ratten mit einer neuen Methode 207

Hertlein, W., s. **M. Wiedersheim, E. Husemann** und **R. Lötterle** 107

Hildebrand, G., s. **H. A. Kühn** 43, 366

Hofmann-Credner, D., Die Bestimmung der Permeabilität und Volumensänderung der isolierten Arterie mit Hilfe radioaktiv markierter Testlösungen 374

Hoffmann, G., und **L. Lendle,** Nachweis extrakardialer Digitaliswirkungen an der Ratte. II. Mitteilung. Darm- und Gefäßwirkung 184

—, und **H. Wienke,** Zur Frage der verschiedenen Empfindlichkeit des Ratten- und Meerschweinchenherzens gegen Digitalis und andere Kontrakturgifte (Ba, Ca) 225

Husemann, E., s. **M. Wiedersheim, W. Hertlein** und **R. Lötterle** 107

Jochum, K., s. **O. Schaumann** und **W. Schaumann** 360

Keiderling, W., F. Wöhler und **O. Westphal,** Über bakterielle Reizstoffe. IV. Mitteilung. Experimentelle Untersuchungen zur Differenzierung der therapeutischen Wirkungen von bakterieller Vaccine, reinem Polysaccharid-Pyrogen und acetylierten Polysaccharid-Derivaten aus gramnegativen Bakterien 293

Klupp, H., s. **K. H. Ginzel, O. Kraupp** und **G. Werner** 173

Köhrmann, W., s. **E. Dunker** 440

Kraupp, O., s. **K. H. Ginzel, H. Klupp** und **G. Werner** 173

Kuhlgatz, G., Tierexperimentelle Untersuchungen zur Pathogenese der „reflektorischen Anurie" 162

Kühn, H. A., und **G. Hildebrand,** Untersuchungen über die Leberlymphe. I. Mitteilung. Eiweißgehalt und Verteilung der Fraktionen in Blut und Leberlymphe normaler Hunde und Katzen und tetrachlorkohlenstoffvergifteter Hunde 43

—, —, Untersuchungen über die Leberlymphe. II. Mitteilung. Übertritt von kolloidalen Farbstoffen und hochmolekularen Substanzen aus dem Blut in die Leberlymphe 366

Kuschinsky, G., H. Mercker, E. Westermann und **H. Lüllmann,** Über die Wirkung des Salyrgan auf das isolierte Rattenzwerchfell 401

Laue, H., s. **M. Monnier** 82

Lembeck, F., Adrenalin, Noradrenalin und Corbasil als Zusatz zu Novocain 274

Lendle, L., s. **G. Hoffmann** 184

Lindlar, F., Die Behandlung der experimentellen akuten Thalliumvergiftung mit 2, 3-Dimercaptopropanol (BAL) 288

Seite

Lötterle, R., s. **M. Wiedersheim, W. Hertlein** und **E. Husemann** 107

Lüllmann, H., und **W. Förster**, Über die Wirkungen neuromuskulär blockierender Substanzen auf den Rückenmuskel des Blutegels und den M. rectus abd. des Frosches 217

—, s. **G. Kuschinsky, H. Mercker** und **E. Westermann** 401

Mercker, H., s. **G. Kuschinsky, E. Westermann** und **H. Lüllmann** 401

Miestereck, H., s. **H. F. Zipf** 456, 472

Monnier, M., und **H. Laue**, Technik der Elektronystagmographie zur Analyse des vestibulären Drehnystagmus beim Tier. (Pharmakologische Prüfung der Wirksamkeit von Antihistaminica-Chlortheophyllin-Verbindungen) 82

Muhlethaler, J.-P., Excitation et inhibition de la croissance étudiées sur des cultures in vitro de fibrocytes 241

Nádor, K., s. **F. Herr, Gy. Pataky** und **J. Borsi** 447

Neumann, K., und **E. Harbers**, Über Strahlendosisverteilung und Organschäden nach Thorium X-Applikation und ihre Beeinflußbarkeit durch Dithiopropanol (BAL) 64

Neumann, W., E. Habermann und **H. Hansen**, Differenzierung von zwei hämolysierenden Faktoren im Bienengift 130

Nieschke, W., s. **M. Anders, H. Dahm** und **R. Taugner** 406

Nyiri, M., s. **F. Herr** und **G. Pataky** 207

Pataky, G., s. **F. Herr** und **M. Nyiri** 207

—, s. **F. Herr, K. Nador** und **J. Borsi** 447

Petzold, H., s. **R. Emmrich** 10

Plewa, W., s. **O. Eichler** 153

Pribilla, W., Das Verhalten des Ferri-Saccharates im Organismus und seine therapeutische Bedeutung 508

Pulewka, P., und **D. Berkan**, Der Einfluß der Umgebungstemperatur auf die resorptiven Wirkungen des Novocains und des Tutocains bei der Maus 280

Ruge, R., und **W. Rummel**, Beeinflussung der Urethanhämolyse durch Schwermetalle 329

Rummel, W., s. **R. Ruge** 329

Ruwe, F., s. **F. Hartmann** und **G. Schulze** 98

Schaumann, O., K. Jochum und **W. Schaumann**, Analgetika und Darmmotorik. II. Wirkung auf den Längsmuskeltonus 360

Schaumann, W., s. **O. Schaumann** und **K. Jochum** 360

Schimert, G., und **H. Blömer**, Beitrag zur Pharmakologie der Crataegus-Wirkstoffe. Über die Kreislaufwirkung der Triterpensäure 337

Schulze, G., s. **F. Hartmann** und **F. Ruwe** 98

Schunk, R., s. **O. Bayer** und **S. Effert** 351

Schwarz, F., Weitere sinnesphysiologische Untersuchungen über die Wirkung des β-Hexachlorcyclohexan 194

Sterz, H., Zur Frage der zentralen Übertragung afferenter Impulse. II. Mitteilung. Exzitantia, Acetylcholin, Adrenalin 256

Stille, G., Die Bedeutung zentralerregender Wirkungen für die Hemmung des Elektrokrampfes 57

Taugner, R., s. **M. Anders, W. Nieschke** und **H. Dahm** 406

—, s. **H. Waltz** 264

Wagner, H., s. **F. Heim** 222

Waltz, H., und **R. Taugner**, Über die Wirkung der Analeptica bei Atmungslähmung durch Erstickung und Entblutung 264

Seite

Werner, G., s. **K. H. Ginzel, H. Klupp** und **O. Kraupp** 173

Westermann, E., s. **G. Kuschinsky, H. Mercker** und **H. Lüllmann** 401

Westphal, O., s. **W. Keiderling** und **F. Wöhler** 293

Wick, H., Fortlaufende Druckregistrierung am uneröffneten Gefäß mittels elektrischer Dehnungsmeßstreifen 348

Wiedersheim, M., W. Hertlein, E. Husemann und **R. Lötterle,** Über die Pharmakologie von wasserlöslichen Polysacchariden und Polysaccharidderivaten 107

Wienke, H., Zur Frage der Beeinflussung der Elektro- und Cardiazolkrampfschwellen durch vegetative Nervengifte 312

—, s. **G. Hoffmann** 225

Wirth, W., Zur Pharmakologie der Phosphorsäureester 144

Wöhler, F., s. **W. Keiderling** und **O. Westphal** 293

Wohlzogen, F. X., Quantitative Untersuchungen über Faktoren, die die Reaktion männlicher Kröten auf Choriongonadotropin beeinflussen . . 482

Zipf, H. F., und **H. Miestereck,** Intravenöse und lokale Beeinflussung der afferenten Herznervenimpulse durch Lokalanästhetica 456

— —, Über die intravenöse Wirkung verschiedener Lokalanästhetica auf die Lungensensibilität 472

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 1—9 (1953).

Studien über die Zusammensetzung der Pericardflüssigkeit*.

Von

F. Blum,

ehemals Direktor des Biologischen Forschungsinstituts zu Frankfurt a. M.

(Eingegangen am 29. September 1952.)

Gelegentlich einer Herzpunktion am Kaninchen füllte sich bei der ersten Aspiration die Spritze mit einer wasserklaren Flüssigkeit, die bei der vergleichenden Untersuchung gegenüber dem Blut sich als eiweißärmer, aber wesentlich zuckerreicher erwies. Die Spritze hatte Pericardinhalt eingesaugt. Meine Aufmerksamkeit wurde dadurch auf ein von mir vorher unbeachtetes Phänomen gelenkt. In der Folge habe ich hauptsächlich an Kaninchen, aber auch an Großtieren (Rind) und an Kleintieren (Meerschweinchen) die Beobachtung auszubauen versucht.

Die Resultate entstammen Sofortentnahmen von Blut und Pericardflüssigkeit am eben getöteten Kaninchen; in gleicher Weise von Meerschweinchen, während der Pericardsackinhalt des Großtiers (Rind) durchweg von Veterinärärzten im Schlachthaus Zürich sachverständig und vorsichtig entnommen und baldmöglichst in den Kühlraum verbracht wurde, um gekühlt, zuweilen sogar gefroren, womöglich am gleichen Tag zur Untersuchung gebracht zu werden.

Methodik.

Die Entnahme beim Kaninchen geschieht in der Weise, daß bei dem aus der art. femoralis entbluteten Tier das Herz freigelegt wird. Mittels kleinem Scherenschnitt wird der nach oben gekehrte Pericardsack eröffnet. Die darin enthaltene Flüssigkeit hat sich abwärts gesammelt, so daß bei vorsichtigem Arbeiten kein Verlust entsteht. Zur Zuckerbestimmung werden im allgemeinen 2 mal 0,1 cm^3 aufpipettiert und die verbliebene Restflüssigkeit bestimmt. Die Gesamtmenge schwankt zwischen 0,3 bis zu annähernd 1,0 cm^3. Ein einziges Mal unter mehr als 100 Entnahmen fand sich eine Gesamtmenge von über 2 cm^3, ohne daß ein erklärender pathologischer Befund festgestellt werden konnte. — Beim Meerschweinchen unterscheidet sich das Vorgehen nur wenig von dem eben geschilderten. Die Entblutung wurde anfänglich aus den freigelegten Carotiden vorgenommen, später durch Decepritation. Die Aufsaugung der Pericardflüssigkeit bleibt, der Kleinheit der Verhältnisse entsprechend, auf 1 mal 0,1—0,05 cm^3 beschränkt. Diese Flüssigkeitsmenge ist bei Tieren von 400 g Körpergewicht ab aufwärts fast stets zu erhalten. Die Gesamtprozedur bis hierher beansprucht etwa 6—8 min. Die Blut- und Pericardzuckerbestimmungen wurden nach Hagedorn-Jensen durchgeführt. Die ersteren geschahen zumeist vor der Tötung und nochmals aus dem abfließenden Blut. Wo

* Herrn Professor Dr. W. Frei in freundschaftlicher Verehrung zu seinem 70. Geburtstag gewidmet.

Zuckerbestimmungen im Serum durchgeführt werden sollten, wurde das — besonders bei Meerschweinchen — rasch gerinnende Blut in Zentrifugengläschen aufgefangen und sofort scharf geschleudert. Das abgeschiedene Serum wird abgegossen. In Fällen, in denen das Verhältnis des Zuckergehaltes des Blutes mit demjenigen der Blutflüssigkeit (Serum) oder Pericardflüssigkeit quantitativ verglichen werden sollte, wurde der nach Abguß des Serums verbliebene Blutschlamm (Blutkörperchen und Fibrin) wiederholt mit Ringer-Lösung oder mit 0,9% NaCl-Lösung — jedesmal unter Auffüllung auf das Ausgangsvolumen unter umrühren — zentrifugiert. Zur Aufsaugung des im Blutschlamm locker adsorbierten Zuckers genügten fast stets 2 Extraktionen. Obwohl meist eine dritte Extraktion nur kleinste Zuckermengen enthielt oder zuckerfrei war, fanden sich in dem durch dest. H_2O hämolysierten Blutschlamm zuweilen noch beachtliche Zuckerwerte. Einige Male wurden in der Pericardflüssigkeit deren Trockengehalt und nach Fällung mit $(NH_4)_2SO_4$ und Essigsäure in der Wärme der Eiweißgehalt, das p_H, Calcium und Phosphor mit den üblichen Methoden bestimmt.

Im Pleuraraum und im Peritonealsack finden sich stets kleine Flüssigkeitsmengen. Wiederholt wurde auch in ihnen der Zuckergehalt bestimmt. Wo den Blutzucker verändernde Maßnahmen vor der Tötung vorgenommen wurden, ist das im Text vermerkt.

Ergebnisse.

Aus den über 100 vorliegenden Vergleichsresultaten zwischen der Höhe des Blutzuckers und dem Zuckergehalt der Pericardflüssigkeit sind in der nachfolgenden Tabelle 10 Resultate zusammengestellt, die als Normalwerte angesehen werden dürfen. Sie stammen aus Schilddrüsenexperimenten, und zwar ausschließlich aus solchen, bei welchen die

Tabelle 1. *(Kaninchen.)*

Nr.	Geschlecht	Blutzucker in mg%	Pericardzucker in mg%	Pericardinhalt in cm³	Bemerkungen
125	weiblich	92	149	0,4	Gefüttert mit bestrahltem Weißkohl und 10 g Körner
127	weiblich	88	129	0,45	Gefüttert mit bestrahltem Weißkohl und 10 g Körner
129	männlich	150	198	—	Gefüttert mit bestrahltem Weißkohl und 10 g Körner
191	weiblich	110	143	—	Weißkohl von jodgedüngtem Acker und 10 g Körner
193	männlich	108	133	0,4	Weißkohl von jodgedüngtem Acker und 10 g Körner
194	weiblich	114	136	0,35	Weißkohl von jodgedüngtem Acker und 10 g Körner
93	weiblich	95	122	—	Weißkohl und Jodeiweiß; normale Schilddrüsen
95	weiblich	108	131	—	Weißkohl und Jodeiweiß; normale Schilddrüsen
132	männlich	89	129	—	Kohlrübenblätter auf Jodboden; normale Schilddrüsen
136	männlich	88	120	—	Kohlrübenblätter auf Jodboden; normale Schilddrüsen

Schilddrüse sich als gesund ergeben hat. Auch der sonstige Organbefund hat bei der Sektion keine krankhaften Veränderungen konstatieren lassen.

Das Verhältnis zwischen der Höhe des Blutzuckers und dem Zuckergehalt der Pericardflüssigkeit läßt keine Konstanz erkennen. Die Tatsache des erhöhten Zuckergehalts im Pericard gegenüber dem umkreisenden Blut ist ersichtlich; eine Parallelität aber besteht nicht, indem die Differenz nicht nur nach dem absoluten, sondern auch nach dem relativen prozentualen Werten verschieden ist. Zeigt doch z. B. die Differenz bei Nr. 1 der Tabelle ein Plus von 57 mg%; bei Nr. 6 eine solche von nur 25 mg% zugunsten des Pericards, was für Nr. 1 eine vermehrte Zuckersättigung des Pericardraums um 62%, für Nr. 6 eine solche von 23% gegenüber dem Blutzucker bedeutet.

Woraus erklären sich diese Schwankungen?

Mehrere Umstände kommen hierfür in Betracht, die möglichst vollständig ausgeschaltet werden müssen, wenn man einen klaren Einblick in den Mechanismus des Geschehens sich verschaffen will. Da ist zunächst die Abhängigkeit des Zuckerspiegels des Blutes von der Nahrungsaufnahme zu nennen. Durch eine ausgiebige Hungerperiode vor Beginn des Experiments ist dies Hindernis unschwer zu beseitigen. Ein zweiter Störungsfaktor ist durch den Umstand gegeben, daß der Schock der Betäubung (durch Kopfschlag) und die Entblutung fast stets einen deutlichen und manchmal sogar einen außerordentlichen Zustrom von Zucker in das Blut zur Folge hat. Als Beispiel hierfür mögen die Befunde der Tab. 2 angesehen werden, und ebenso sei auf die beträchtlichen nach kurzer Zeit schon eintretenden Anstiegswerte der Tab. 4 hingewiesen.

Tabelle 2. *(Kaninchen.)*

Nr.	Geschlecht	Blutzucker in mg%		
		nüchtern	Stunden später bei Tötung durch Kopfschlag und Entblutung aus der art. femoralis	
194	männlich	100	½ Std	115
162	weiblich	89	1 Std	156
246	weiblich	71	1 Std	126
215	weiblich	94	½ Std	118
158	männlich	79	½ Std	110

Für die Belieferung der wasserklaren Pericardflüssigkeit kommt vom Gesamtblut allein das Serum als Zuckerträger in Betracht, da die corpusculären Anteile des Blutes sowie das Fibrin zuckerfrei sind. Es ist infolgedessen notwendig, daß man den Zuckergehalt der Pericardflüssigkeit mit demjenigen des Serums in Vergleich setzt. Wenn auch, wie die Tab. 3 dartut, meist schon die einmalige Abscheidung des Serums mittels

scharfer Zentrifugierung einen gesteigerten Zuckergehalt gegenüber der Pericardflüssigkeit ergibt, so ist doch zum Zweck eines exakten Vergleichs notwendig, den abgeschiedenen Blutschlamm (Blutkörperchen und Fibrin) im Sinn der Methodik (siehe oben) noch mehrfach nachzuwaschen und die erhaltenen Werte dem Serumzucker zuzufügen. Bei dem Kaninchen, bei welchem 10—15 min vor der Tötung genügend Blut

Tabelle 3. *(Kaninchen.) Verhältnis zwischen Blutzucker, Pericardzucker, Serumzucker (Serum nur einmal zentrifugiert).*

Nr.	Blutzucker mg%	Pericard-zucker mg%	Serum-zucker mg%	Durchschnittliches Verhältnis von Pericardzucker zu Serumzucker
370	95	123	135	1:1,13
409	94	129	147	
405		120	151	
390	108	149	168	
391	109	139	168	
417	102	129	132	
374	107	139	138	
404	107	140	139	
407	112	144	170	
306	82	95	126	
307	72	112	118	
327	103	130	147	

zur Serumabscheidung entnommen werden kann, wodurch die Einwirkung des Schocks wegfällt, ist die durch Nachwaschungen restlose Gewinnung des Serumzuckers eine notwendige Voraussetzung. Unter Einhaltung der geschilderten Bedingungen bereitet die Beschaffung des ersten Vergleichspartners, des Zuckergehalts eines ungestört gewonnenen Blutserums, keine Schwierigkeit. Aber auch der Zuckergehalt der Pericardflüssigkeit ist weniger labil, als es auf den ersten Blick vielleicht erscheinen könnte. Darf doch die durch den Schock bei der Tötung eintretende Zuckerverschiebung aus mehreren Gründen in bezug auf den Pericardzucker unberücksichtigt bleiben. Ein erster Grund hierfür liegt darin, daß der Austausch zwischen Blutserum und Pericardflüssigkeit nicht als rascher Filtrationsprozeß sich abspielt, sondern selektiv und dementsprechend langsam verläuft, wie sich aus dem großen Unterschied im Eiweißgehalt der Flüssigkeiten gegenüber ihrem Zuckergehalt ersehen läßt. Auch die später zu schildernden erheblichen Änderungen im Zuckergehalt beider Fluida unter Einwirkung von Adrenalin und Insulin tun durch ihre Ungleichmäßigkeit im Ablauf dar, daß kein Filtrations- sondern ein allmählicher selektiver Membranprozeß vorliegt. Fernerhin kommt der durch den Schock bei der Tötung ansteigende Zuckergehalt des Blutes

für das Pericard auch deshalb nicht in Betracht, weil das schnell abfließende Blut nicht mehr imstande ist, dem Pericard ein erhöhtes Angebot von Zucker zuzuführen.

Tabelle 4. *(Kaninchen.)*

Nr.	Gewicht	Zuckergehalt im Blut 15 min vor Tötung	im Tötungsblut	im Serum des Blutes vor der Tötung	im Pericard	Zuckerverhältnis Serum/Pericard
	kg	mg%	mg%	mg%	mg%	in %
1	3,25	136	179	238	200	119
2	4,15	104	171	182	178	102
3	1,45	101	137	161	125	129
4	1,5	114	164	185	162	114

Bei diesen Tieren wurde das 15 min vor der Tötung entnommene Blut während einiger Minuten scharf zentrifugiert; der verbliebene Blutschlamm nochmals, wie beschrieben, mit 0,9%iger NaCl-Lösung extrahiert; alsdann durch destilliertes H_2O hämolysiert. Der prozentuale Zuckergehalt dieser Extraktionen wurde dem Serumzucker zugefügt. (Bei Nr. 1 20 + 9, Nr. 2 19 + 12, Nr. 3 16 + 9, Nr. 4 16 + 7 mg%.)

Im Meerschweinchenversuch liegen die Verhältnisse anders. Hier muß, weil zumeist nicht genügend Blut zur Gewinnung von Vorausserum vorhanden ist, das Tötungsblut bzw. sein Serum zur Berechnung herangezogen werden. Unter Zugrundelegung der Differenz des Zuckergehalts des Vorausblutes gegenüber dem Tötungsblut und aus dessen Serumzucker wird der Zuckergehalt des Vorausserums berechnet. Da die Anstiegzahlen durch den Schock beim Meerschweinchen (vgl. Tab. 5)

Tabelle 5. *(Meerschweinchen.)*

Nr.	Gewicht	Zuckergehalt im Blut 10 min vor Tötung	im Tötungsblut	in dessen Serum einschl. Auswaschung	im Serum vor der Tötung berechnet aus der Blutzuckerdifferenz vor und bei Tötung und dem Tötungsserum	im Pericard	Zuckerverhältnis Serum/Pericard
	g	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	in %
1	750	85	91	143	134	128	104
2	817	95	98	169	164	145	113
3	650	81	93	172	150	143	105
4	793	111	124	262	233	161	148
5	760	90	105	192	165	147	112
6	810	107	121	211	187	166	113
7	935	105	127	207	171	159	108

Berechnungsformel: $\frac{\text{Zuckergehalt des Tötungsblutes} : \text{Zuckergehalt des Normalblutes}}{\text{Zuckergehalt des Serums des Tötungsblutes} : x}$

x = Zuckergehalt des Normalserums.

Verhältnis des Zuckergehalts des Normalserums zu Pericardzucker = Prozentgehalt. Durchschnittlicher Prozentgehalt des Verhältnisses Serumzucker/Pericardzucker der 7 Meerschweinchen 115,4 mg%. Pericardzucker/Serumzucker 1:1,15.

nirgends sehr erheblich gewesen sind — sie bewegen sich zwischen 95 auf 98 mg% bis maximal 105 auf 127 mg% mit einem durchschnittlichen Anwachsen von 12,1 mg% — dürften die berechneten Resultate nur mit einem geringen Unsicherheitsfaktor behaftet sein. Die indirekt gefundenen, nur berechneten Serumzuckerwerte der Meerschweinchen in ihrem Verhältnis zum Pericardzucker mit 1,15:1 und die Quotienten des direkten Vergleichs beim Kaninchen, wie sie aus Tab. 3 (12 Tiere ohne Nachwaschung des Ausgangsblutes) mit 1,13:1 und die nur ganz gering durch Nachwaschung ergänzten Werte der Tab. 4 mit 1,16:1 liegen sehr nah zusammen, so daß sie sich gegenseitig zu bestätigen scheinen.

Die Untersuchungen am Großtier erlauben nicht, den relativen Zuckergehalt der Pericardflüssigkeit in Vergleich mit dem Blut zu setzen. Dazu konnte die Sammlung und Anlieferung des Materials nicht genügend schnell durchgeführt werden. Entsprechend fanden sich ungleiche Werte, die in ihrem Absinken deutlich verfolgt werden konnten. Die höchsten Zuckerwerte der stets aus der Entnahme von mehreren Rindern gesammelten Pericardflüssigkeit betrugen 98, 107, 109 und 114 mg%. Unter der Annahme, daß diese Flüssigkeitsmengen am wenigsten verändert seien, wurden sie zur Feststellung ihrer wenig labilen Bestandteile benützt.

Das Volumen des Pericardfluidums variiert je nach Tier- und Herzgröße zwischen 50 und 100 cm³. Das Aussehen war, wofern ohne Blutbeimengungen aufgefangen, wasserklar, zuweilen mit einem leichten Stich ins Gelbgrünliche. Oftmals schwamm darin eine lichte Wolke, sich ausnehmend wie eine helle Qualle. Diese Wolke entstammt der Zusammenballung eines farblosen Gerinnsels. Das spezifische Gewicht variiert wenig; es bewegt sich zwischen 1005 und 1007. Das p_H betrug 7,4—7,6. Der an 2 Proben ermittelte Trockenrückstand aus je 50 cm³ ergab 2,007 g. Der Eiweißgehalt setzt sich aus einem Globulinanteil, der durch Aussalzung 1:1 mit gesättigter $(NH_4)_2SO_4$-Lösung ausfällt, und Albumin zusammen, das dann durch Ansäuerung und Erhitzung abgeschieden wird. Der prozentuale Gesamteiweißgehalt bewegte sich zwischen 2 und 2,2%. Die Ca- und P-Bestimmungen ergaben für Ca 10,5 mg% und 10,7 mg%, für P-Werte von 31—62 mg im Liter mit einem Haupanteil von 25—56,5 mg an organisch gebundenem und 4—7 mg an anorganischem Phosphor.

Der Eiweißgehalt der Pericardflüssigkeit von Kaninchen wurde ebenfalls an Sammelgut bestimmt: 5,3 cm³ ergaben 2,104% Eiweiß; ein anderes Mal 1,972%, zusammengesetzt aus 1,953% gelöstem Eiweiß und 0,0188% Fibrin. Ein drittes Mal ergab die Gesamtanalyse in 3,5 cm³ 2,39% Eiweiß.

Nachdem im Vorstehenden die chemische Zusammensetzung der Pericardflüssigkeit unter normalen Bedingungen dargelegt worden ist, möge über den Einfluß von dem Zuckergehalt des Blutes charakteristisch verschiebenden Agentien wie Adrenalin, Insulin und Alloxan auf die Pericardflüssigkeit an Hand einiger Beispiele berichtet werden.

Adrenalin.

Kaninchen 244, 11. Juni 1943: Blutzucker nüchtern 90 mg%; Serum (nach 7 min dauernder Zentrifugierung) 138 mg%. Jetzt subcutane Injektion von 1 mg Adrenalin. Nach 1½ Std Blutzucker 249 mg%. Jetzt Entblutung. Blutzucker im abfließenden Blut 266 mg%, Serum (nach 10 min dauernder Zentrifugierung) 329 + 8 + 2 = 339 mg%. Pericardzucker 262 mg%. Prozentuale Steigerung Serum/Blutzucker vor Adrenalin 53,3%, nach Adrenalin 27,6%. Unterschied zwischen Serumzucker und Pericardzucker 77 mg%, das ist Steigerung des Serumzuckers/Pericardzuckers 22,7%.

Kaninchen, m., 2,9 kg, 5. April 1952, erhält nach 4stündigem Hungern 1,8 mg Adrenalin subcutan. Nach 2 weiteren Stunden Entblutung. Blutzucker mehr als 385 mg%; Serum (9 min zentrifugiert) 479 mg%, Pericardzucker 366 mg%. Eine Berechnung des Blutzuckers wurde dadurch verunmöglicht, daß mit einer so hohen Steigerung nicht gerechnet worden war. Immerhin war selbst dieser nicht bis zum letzten analysierte Blutzucker höher als derjenige der Pericardflüssigkeit. Dieser wiederum ist um 113 mg% geringer zuckerhaltig, als derjenige des Serums.

Meerschweinchen 3, vom 1. April 1943, 240 g: Blutzucker vor Adrenalin 127 mg%. Subcutane Injektion von 0,002 mg Adrenalin. Bleibt nüchtern bis zur Entblutung 3½ Std später. Jetzt: Blutzucker 167 mg%, Serum 246 mg%. Pericard in 0,04 cm^3 bestimmt 197 mg%.

Meerschweinchen 6, vom 20. April 1943, 360 g: 11,30 Uhr 0,003 mg Adrenalin subcutan. Blutzucker vor Adrenalin 112 mg%, 4½ Std später bei Entblutung 174 mg%. Serumzucker 232 mg%, Pericardzucker 285 mg%. Flüssigkeit im Peritonealraum (wasserklar) 250 mg%. — Offenbar war hier Blut- und Serumzucker bereits im Abstieg, während der Zuckergehalt der Höhlenflüssigkeiten sich noch nicht aus der Steigerung heraus adaptiert hatte.

Insulin.

Kaninchen 241, 10. Juni 1943: Blutzucker (nüchtern) 116 mg%, Serumzucker 138 mg%. Jetzt subcutane Injektion von 15 I E Insulin. Nach 2½ Std vor Tötung 42 mg% Blutzucker, bei Entblutung 43 mg%, im Serum (15 min später) 36 + 1 + 0 + 0 = 37 mg%, Pericard 50 mg%. — Hier zeigt sich ein Nachhinken des Zuckerabsturzes im Pericardraum gegenüber dem sich senkenden Blut- und Serumzucker.

Meerschweinchen 5, 20. April 1943, 240 g: Vor Insulin 167 mg% Blutzucker. Um 11,30 subcutane Injektion von 2 I E 4 Std später Tötung. Blutzucker 129 mg%, Serumzucker 136 mg%, Pericardzucker 98 mg%, Peritonealflüssigkeit (wasserklar) 150 mg%. — Hier beharrt der Pericardzucker noch auf seinem Tiefstand, während offenbar Blut- und Serumzucker bereits im Wiederanstieg sind.

Alloxan.

2 durch je 600 mg Alloxan/kg subc. diabetisch gewordene und geraume Zeit in diesem Zustand gebliebene Kaninchen werden entblutet. Das eine zeigt einen Blutzuckerwert von 333 mg% und im Pericard 346 mg%; das andere 471 mg% Blutzucker und 357,5 mg% in der Pericardflüssigkeit. Ein neuerlich durch einmalige intravenöse Injektion von Alloxan während 1 Monat hochdiabetisches Kaninchen wird entblutet: Vor der Tötung Blutzucker 680 mg%: sofort nach der Tötung 618 mg%. Im Serum, Pericard- und Pleuraflüssigkeit mehr als 770 mg% Zucker.

Besprechung.

Die Pericardflüssigkeit, wie sie sich gemäß ihrer chemischen Eigenart darstellt, erheischt durch die quantitative Verschiedenartigkeit ihrer Bestandteile gegenüber der umkreisenden Blutflüssigkeit besonderes

Interesse. Die wasserklare, zuweilen einen leichten Stich ins Gelbgrünliche tragende Lösung enthält Eiweiß, Zucker und Salze, deren Herkunft sich aus dem Blutplasma ableiten läßt. Die Mengenverhältnisse der einzelnen Bestandteile aber unterscheidet sie deutlich von dem Plasma. Das gelöste Eiweiß setzt sich zwar aus einem Globulin- und einem Albuminanteil sowie Fibrinogen zusammen; die absolute Eiweißmenge aber liegt mit etwa 2% weit unter dem Niveau des Blutplasmas. Die untersuchten Mineralien der Pericardflüssigkeit unterscheiden sich von denjenigen des Blutes nicht unerheblich. Der relativ beträchtliche Anteil von organisch gebundenem Phosphor am Gesamtphosphor weist auf einen größeren Gehalt an Phosphatiden oder phosphorylierten Kohlenhydraten hin. Eine besondere Stellung nimmt der nach Hagedorn-Jensen bestimmte Zuckerbestand der Pericardflüssigkeit ein. Er steht sichtlich in enger Beziehung zu dem Serumzucker, dessen Niveau, wofern man alle zugehörigen Anteile vereinigt, unter normalen Bedingungen in dem ungefähren Verhältnis von 1 Pericard- zu 1,15 Serumzucker gelegen ist. Die absolute Niveauhöhe aber ist bei den einzelnen Tieren in recht weiten Grenzen verschieden. Die intensiven Schwankungen des Zuckergehalts bei Heraufschraubung durch Adrenalin oder Alloxan und die Herabdrückung durch Insulin illustrieren nicht nur das Mitgehen des Pericardzuckers bei den Veränderungen der Serumzuckerhöhe; sie zeigen auch an, daß es sich um einen zeitlich meßbar verschiedengradigen Angleichungsprozeß handelt und nicht etwa um einen schnellen Filtrationsprozeß. Wie aber erklärt sich der im Normalen stets geringere Zuckergehalt der Pericardflüssigkeit gegenüber dem höheren des Blutserums? Die wahrscheinlichste Deutung dieser bemerkenswerten Erscheinung liegt in dem stets vorhandenen, nimmersatten Kohlenhydratbedürfnis des in dem Herzbeutel eingebetteten und wie ein Rührwerk tätigen Herzens. Es zieht die verfügbaren Kraftquellen des Pericardserums an sich und nutzt sie zu eigener Tätigkeit aus. Wie intensiv dieser Vorgang sich abspielt, ist vielleicht unter Einbringung von radioaktivem Zucker in den Pericardraum und Verfolgung seines Weges feststellbar. Jedenfalls zeigen alle berichteten Beobachtungen, daß es sich bei dem Herzbeutel und seiner Füllung um eine am Zuckerumsatz beteiligte und nicht um eine nur mechanisch aufzufassende Institution handelt — eine Kraftreserve des Herzens. Das langsame Auf und Ab des Pericardzuckerspiegels bei akut erzwungenen Steigerungen und Senkungen des Blutzuckers, entspricht auch der außerhalb des Organismus vorhandenen Zeitbeanspruchung bei Diffusionsvorgängen. Für Salz- und Zuckermoleküle spielt sich der Vorgang in immerhin noch relativ kurzen Zeitläufen ab; die fast bewegungslos erscheinende Eiweißkomponente dürfte eine wesentlich längere Zeitspanne zu einer Umsetzung benötigen.

Die beim Durchblick wasserklar erscheinende Pericardflüssigkeit läßt bei mikroskopischer Betrachtung des Kaninchenpericardfluidums einen geringen Gehalt an Zellen — Lymphocyten, Leukocyten und Endothelzellen — erkennen. Die in der Flüssigkeit herumschwimmenden Erythrocyten dürften der unvermeidlichen Verletzung bei der Eröffnung des Pericardsacks entstammen. Sie stehen in keinem erkennbar konstanten Verhältnis zu den anderen Zellen. Diese ihrerseits erinnern durch ihren gegenüber dem Mischungsverhältnis im Blut recht hohen Anteil von Lymphocyten daran, daß der Lymphstrom, wenn auch in bescheidenem Ausmaß, sich an dem Zustrom zur Pericardflüssigkeit beteiligt.

Zusammenfassung.

1. Das Herz umgibt eine im Pericardsack gespeicherte wasserklare, zellarme Flüssigkeit mit einem Volumen von 0,3—1,0 cm^3 beim Kaninchen; beim Meerschweinchen je nach Körpergröße von etwa 0,05—0,2 cm^3; beim Großtier (Rind) 50—100 m^3.

2. Das p_H der Lösung liegt zwischen 7,5 und 7,7. Das spezifische Gewicht bewegt sich zwischen 1,001 und 1,007. Als Bestandteile wurden festgestellt: Eiweiß in 2—2,2%iger Lösung; Ca und P und Zucker ähnlich dem Gehalt des Blutserums.

3. Der Zuckergehalt liegt normaliter etwas unter demjenigen des Serums. Die spontanen wie erzwungenen Schwankungen im letzteren macht der Pericardzucker mit; aber in einer Weise, die deutlich den verlangsamten Angleich erkennen läßt.

Es wird darauf hingewiesen, daß das in der Pericardflüssigkeit schwimmende Herz diesen Zuckergehalt möglicherweise für sich ausnutzt.

Prof. Dr. Dr. h. c. F. Blum, Zürich, Klosbachstraße 48.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 10—12 (1953).

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität Halle/Saale
(Direktor: Prof. M. Ratschow).

Über die Wirkung des Magnesiums auf die Regeneration der Rattenleber.

Von
Rolf Emmrich und Hans Petzold.

(Eingegangen am 14. Juni 1952.)

Werden etwa $^2/_3$ der Rattenleber reseziert, so kommt es zu Hypertrophie und rascher Regeneration des Leberrestes, allerdings unter anfänglich starker Verfettung. An diesem Test fanden wir[1], daß Corhormon, ein Extrakt aus embryonalem Herzen, die Fettinfiltration weitgehend verhütet. Corhormon hatte aber nicht die Eigenschaft, gespeichertes Fett in gleicher Weise zu mobilisieren wie es das Cholin vermag. Wir deuteten die Wirkung des Corhormons, das nach Lettré[2] viel komplex gebundenes Magnesium enthält, im Sinne einer Fermentaktivierung. Helmreich[3] meint, daß es sich um eine direkte Stimulierung der Adenosintriphosphatase handeln könnte.

Es erhob sich die naheliegende Frage, ob dem Magnesium-Ion die gleiche Wirkung zukommt wie dem Corhormon, wenn es in Form einer Magnesium-Salz-Lösung injiziert wird. Im folgenden wird gezeigt, daß mit $MgCl_2$ derselbe Effekt zu erzielen ist wie mit dem Corhormon.

Methodik.

Wir schlossen die Versuche mit Mg an unsere bereits veröffentlichten Untersuchungen[1] an und bedienten uns derselben Methodik. Mit Magnesium behandelt: 16 Ratten (Gruppe D). Vom 3. Tage vor Beginn des Versuches bis zur Tötung erhielt jedes Tier täglich 1 cm³ einer 1%igen $MgCl_2$-Lösung subcutan injiziert. Die Injektionen wurden reaktionslos vertragen. 8 Tiere wurden 2 und 8 Tiere wurden 10 Tage nach der Leberresektion getötet.

Ergebnisse.

a) Histologische Untersuchungen. Nach $MgCl_2$ enthält die resezierte Leber ebenso wie die unbehandelte Rattenleber nur geringste Fetteinlagerungen. 2 Tage nach der Resektion findet man, wenn mit Magnesiumchlorid behandelt wurde, eine fein- bis großtropfige Verfettung, die sich nur über die peripheren und mittleren Läppchenabschnitte verteilt, die zentralen Anteile aber frei läßt. In der Peripherie sind die Zellen durch die Fetttropfen wabig aufgetrieben, die Kerngröße ist wechselnd. Zellen

mit mehreren Kernen findet man selten, sie liegen vorwiegend im Grenzbereich vom verfetteten zum nicht verfetteten Gewebe. Bei den Kontrolltieren ist die gesamte Leber diffus fein- bis großtropfig verfettet. Das viele Fett liegt dann intra- und extrazellulär. Die mäßige Verfettung nach Corhormon entspricht etwa der Fettansammlung unter Magnesiumbehandlung.

10 Tage nach der Resektion beschränkt sich bei den Magnesiumtieren die Verfettung nur noch auf die Peripherie, sie ist gering. Mitunter geht sie noch auf mittlere Läppchenabschnitte über, läßt aber die zentralen regelmäßig frei. Bei 3 von den 8 Tieren finden sich auch in der Peripherie nur vereinzelt größere Tropfen. Anscheinend neigen einzelne Tiere mehr zur Fetteinlagerung als andere Tiere, bei ihnen enthält die Leber auch vor der Resektion etwas mehr Fett. Auffallend ist, daß nach 10tägiger Dauer post operationem die Leberzellen einiger Tiere ein „gequollenes" Aussehen boten.

Versuch	Zahl der Tiere	Lebensdauer/Tage	Resez. Leber % vom Ges.-Gew.	Regen. Leber % vom Ges.-Gew.	Trockengewicht		Fette		Gesamt-N	
					Resez. Leber %	Regen. Leber %	Resez. Leber %	Regen. Leber %	Resez. Leber %	Regen. Leber %
A. Kontrolltiere. . .	5	2	1,79	2,44	26,4	32,0	3,06	11,4	12,2	13,3
	5	10	2,72	3,28	26,6	28,0	2,75	3,59	11,6	12,2
C. Corhormon . . .	5	2	2,21	2,74	25,7	28,1	2,88	6,62	12,6	12,1
	5	10	2,06	2,66	26,4	28,1	3,08	4,32	12,3	12,5
D. Magnesiumchlorid	7	2	2,33	2,34	26,8	28,6	2,03	6.54	12,8	12,7
	1	2	2,01	2,49	28,4	33,0	3,95	13,6	13,3	13,2
	8	10	2,04	2,61	27,0	27,6	2,44	2,59	12,4	12,4

Erläuterungen. Die Kontrolltiere zeigen, wenn sie 2 Tage nach der Operation getötet wurden, eine erhebliche Verfettung der restlichen Leber. Gleichzeitig ist das Trockengewicht der regenerierten Leber erhöht und der Gesamt-Stickstoffgehalt der regenerierten Leber vermehrt, woraus zu schließen ist, daß die Leber an Glykogen verarmte.

Nach Corhormon ist die Verfettung viel geringer, Trockengewicht und Gesamt-N des regenerierten Leberanteiles sind nicht erhöht, so daß nur ein geringer Glykogenverlust eingetreten sein kann. Ebenso gering ist die Verfettung bei den Tieren, die mit Magnesium behandelt wurden. Ein einziges Tier machte hiervon eine Ausnahme, bei ihm wurde ein hoher Fettgehalt der regenerierten Leber nachgewiesen. Allerdings lag bei diesem Tier der Ausgangswert mit 3,95% Fetten bereits hoch, so daß eine besondere lipophile Tendenz dieses Tieres anzunehmen ist.

Die mit Magnesium behandelten Tiere, welche 10 Tage nach der Operation getötet wurden, wiesen nach diesen 10 Tagen einen annähernd normalen Fettgehalt der regenerierten Leber auf, während bei Kontrolltieren und bei Corhormon-behandelten Tieren noch eine geringe Fettvermehrung vorhanden war.

Besprechung der Ergebnisse.

Magnesium-Ionen ($MgCl_2$) sind ebenso wie Corhormon befähigt, im Rattenleber-Regenerationstest die initiale Verfettung des hypertrophierenden und regenerierenden Leberrestes weitgehend zu verhüten. Es kann deshalb der Schluß gezogen werden, daß die Wirksamkeit des Corhormons — wenigstens in dem von uns benutzten Test — auf seinem hohen Magnesiumgehalt beruht. Ob die gefundene Magnesium-Wirkung auf eine Aktivierung der Adenosintriphosphatase oder vielleicht auf die Aktivierung anderer Phosphatasen zu beziehen ist, wäre noch zu klären.

Beim Menschen hat Corhormon, wenn es mit 5- oder 10%iger Glukoselösung im Dauertropf i. v. infundiert wird, eine günstige Wirkung auf die Leber, besonders bei chronischen Leberparenchymschäden wie bei der sich nicht lösenden Hepatitis oder bei der frühen hypertrophischen Lebercirrhose (Emmrich und Heidelmann[4]). Eine ähnliche Wirkung müßte dem $Mg^{\cdot\cdot}$ zukommen.

Anmerkung bei der Korrektur: Kürzlich erschien in der Ztschr. f. physiol. Chem. **290**, 119 (1952) eine Arbeit von E. Helmreich und St. Goldschmidt: „Die Förderung der Adenosintriphosphatase-Aktivität des Herzmuskelhomogenates durch embryonalen Herzextrakt (Corhormon)", wo mit einer enzymatischen Effektoranalyse nachgewiesen wurde, daß das Corhormon mittels seines Mg.-Anteils als Cofermente der ATP-Dephosphorylierung wirkt. Mg.-freies Corhormon ist unwirksam. Corhormon aktiviert die enzymatische Dephosphorylierung des ATP durch Herzmuskelhomogenat, unter optimalen Bedingungen zwar etwa im gleichen Umfang wie $MgCl_2$, jedoch unterscheiden sich die Aktivatorwirkungen von Corhormon und $MgCl_2$ deutlich.

Literatur.

[1] Emmrich, R., u. H. Petzold: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **214**, 333 (1952). — [2] Lettré, H.: Vortrag auf der Chemiker-Tagung München 1949. — [3] Helmreich, E.: Die Therapiewoche 1950/51, Juli 1951. — [4] Emmrich, R., u. G. Heidelmann: Dtsch. Z. f. Verdgs.- u. Stoffwechs.-Krankh. (im Druck).

Doz. Dr. Rolf Emmrich, Halle/Saale, II. Medizinische Klinik der Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 13—20 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. Dr. W. Schulemann).

Über das steuerbare Meerschweinchenasthma.

Von
Hans Friebel und Anselm Basold.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. Juni 1952.)

Die Kenntnis und die Behandlung des Bronchialasthmas konnte wesentlich verbessert werden, nachdem das „Meerschweinchenasthma" als tierexperimentelles Arbeitsmodell eingeführt worden war. Für das allergische Asthma bei sensibilisierten Tieren leisteten Alexander, Becke und Holmes[1] den grundlegenden Beitrag. Kallós und Pagel[2] entwickelten das Histaminasthma. Das allergische Meerschweinchenasthma, das engere Beziehungen zum menschlichen Bronchialasthma hat, eignet sich besonders gut zur Bearbeitung pathophysiologischer Fragestellungen. Das Histaminasthma, welches leichter zu handhaben ist, diente vorwiegend zur Entwicklung von Asthmaheilmitteln[9]. Beide Methoden können noch erheblich ausgebaut und dem menschlichen Asthma besser angeglichen werden. *Bei den hier beschriebenen eigenen Arbeiten versuchten wir, die Dauer und die Stärke des Asthmaanfalls willkürlich zu lenken und außerdem das Asthma graphisch zu registrieren.*

Bei der üblichen Arbeitsweise wird so vorgegangen, daß man die Versuchstiere einem asthmaerzeugenden Aerosol aussetzt. Die Inhalation wird unterbrochen, wenn sich erste Anzeichen für einen Anfall beobachten lassen. In den folgenden Sekunden und Minuten steigern sich die Krankheitszeichen bis zu einem Höhepunkt, an dem das Tier dem Erstickungstode nahe ist. Gleich darauf schwindet das Asthma wieder. Beim Histaminasthma verhalten sich die Tiere 10 min nach dem Höhepunkt des Anfalls wieder normal, beim allergischen Asthma dauert es gewöhnlich bis zu 20 min. Unseres Wissens ist es bisher nur Kallós und Preuner[4, 5] — und beiden nur beim allergischen Asthma — gelungen, die Inhalation von asthmaerzeugenden Aerosolen einige Minuten über den Beginn des Asthmas hinaus ohne Schaden für die Versuchstiere zu verlängern. Ein längerdauerndes Asthma von gleichbleibender Stärke konnte bisher nicht erzeugt werden.

Die Schwierigkeit, Anfallsdauer und Heftigkeit des Anfalls zu beherrschen, bringt es mit sich, daß man bis jetzt noch nicht in der Lage war, bei der Arzneimitteltestung an asthmatischen Meerschweinchen so vorzugehen, wie es im Hinblick auf die Anwendung dieser Mittel in der

Humantherapie wünschenswert erscheint. Beim Meerschweinchen müssen die Arzneimittel vor der Einleitung des Asthmas oder zugleich mit dem Auftreten oder dem Höhepunkt des Asthmas gegeben werden. In der Therapie erfolgt die Anwendung meist erst einige Zeit nach dem Auftreten von Asthmabeschwerden. Dieser Unterschied ist keineswegs gleichgültig, denn das Reaktionsorgan verändert sich während des Anfalls und damit auch seine Ansprechbarkeit für Arzneimittel. Verantwortlich hierfür sind die Ödembildung und Schleimabsonderung, die sich erst nach dem initialen Auftreten des Bronchospasmus zu voller Stärke entwickeln. Im Gesamtkomplex der pathologischen Funktionen werden sie neuerdings stark in den Vordergrund gerückt[6, 7]. Dementsprechend sollten Arzneimittel, bei denen nicht allein die broncholytische Wirkung untersucht werden soll, erst einige Zeit nach dem Auftreten des Asthmas verabreicht werden.

Diese Überlegungen weisen auf die Bedeutung der Anfallsdauer hin. Von gleicher Bedeutung ist aber auch die Stärke des Asthmaanfalls. Beabsichtigt man nämlich, Arzneimittel während eines längerdauernden Anfalls an einer Reihe von Meerschweinchen auszutesten, so muß das Krankheitsbild bei den einzelnen Tieren gleich schwer sein und während des Versuchs konstant bleiben. Man muß in der Lage sein, den einmal eingetretenen Asthmaanfall auf ein bestimmtes Niveau einzusteuern und dann gleichbleibend zu erhalten. Gelingt dieses Vorgehen sowohl beim Histaminasthma wie beim allergischen Asthma, so ergibt sich weiterhin die Möglichkeit, Prüfungsergebnisse miteinander zu vergleichen, die mit beiden Methoden gewonnen wurden.

Eine soweit ausgebaute Arbeitstechnik erfordert eine verfeinerte Versuchskontrolle, z. B. eine graphische Registrierung des Asthmas. In dieser Richtung sind neben anderen von Reichel[8] Versuche unternommen worden. Sie haben zu kymographisch registrierten Aufzeichnungen der Frequenz und Amplitude von Atemkurven geführt. Zur Beurteilung des Asthmas ist es aber notwendig, *Formveränderungen des Atemkurvenzuges* festzuhalten, die auf eine veränderte Atemmechanik zurückzuführen sind.

Unsere Arbeitsweise besteht nun darin, daß wir die Tiere sowohl mit Histamin wie auch mit Antigen in einen Anfall einsteuern, dessen Dauer und Stärke beliebig geregelt werden kann. Bei den Tieren wird zunächst mit einem hochkonzentrierten, asthmaerzeugenden Aerosol innerhalb weniger Minuten der Anfall hervorgerufen. Dann wird die Aerosolzufuhr abgebrochen und abgewartet, bis sich das klinische Bild des mittelschweren Asthmas entwickelt hat. Diesen Zustand versuchen wir durch erneute, kontinuierlich fortgesetzte Zufuhr von asthmogenem Aerosol von geringerer Konzentration zu fixieren. Man kommt zum Ziel, wenn die Konzentration der asthmogenen Substanz sowohl bei der Einleitung wie bei der Unterhaltung des Asthmas passend gewählt ist.

Ist die Konstanz des Asthmas gesichert, so kann die Arzneimitteltestung beginnen. Die Arzneimittel können injiziert oder inhaliert werden. Eine Komplizierung für die Steuerung ergibt sich hierdurch nur dann, wenn die Arzneimittel inhaliert werden, denn der Arzneimittelnebel, welcher dem asthmogenen Aerosol beigemischt werden muß, verändert die Dichte des Gesamtnebels. Man kann das vermeiden, wenn

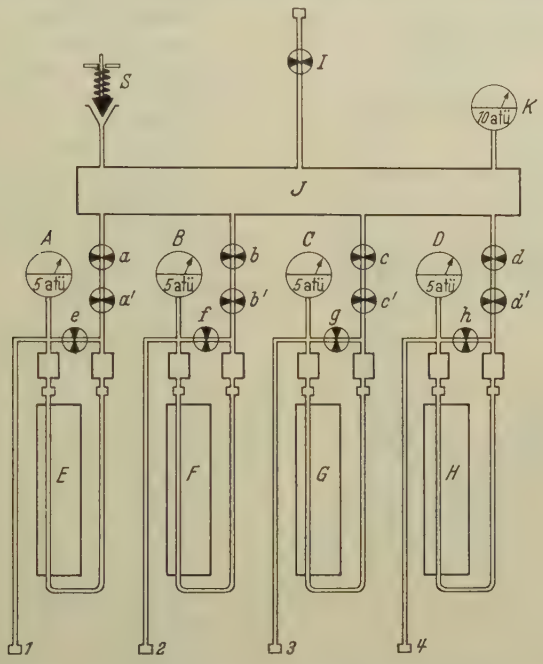


Abb. 1. Preßluftverteiler. *i* Preßluftzuführung mit Ventil, *J* zugehöriger Behälter, *S* Sicherheitsventil, *K* Manometer, *1—4* Zweigleitungen, *A—D* zugehörige Manometer, *a—d* Absperrhähne, *a'—d'* Regulierventile, *e—h* Stauventile, *E—H* zugehörige Wasserdifferentialmanometer.

man dem asthmogenen Aerosol von vornherein einen Wassernebel beimischt, der zu gegebener Zeit gegen das Arzneimittelaerosol ausgetauscht wird.

Wir haben daher ein Gerät entwickelt, das mehrere Zerstäuber enthält, aus welchen Histamin-, Antigen-, Arzneimittel- oder Wassernebel unter kontrollierten Bedingungen dem Versuchstier zugeführt werden kann. Über die Einzelheiten unserer Gerätkonstruktion berichtet Basold in seiner Dissertation[9], so daß wir uns hier auf eine abgekürzte Beschreibung beschränken.

Das Verneblergerät besteht aus einer Gruppe von 4 Pari-Triplex-Zerstäubern. Verwendbar sind ausschließlich diejenigen Düsen, welche nicht nur einen gleichgroßen Luftverbrauch (etwa 6 Liter/min bei 1,8 Atü), sondern auch ein übereinstimmendes Ansaugvermögen für die zu vernebelnde Flüssigkeit (nephelometrisch

und gravimetrisch geprüft) haben. Die erforderliche Preßluft wird nach Freifiltern von Ölnebel den Zerstäubern zugeleitet.

Den Zerstäubern vorgeschaltet ist *ein Preßluftverteiler* (Abb. 1), in dem die Luftzuführung in 4 Zweige gegabelt wird und in dem außerdem eine Druckminderung vorgenommen wird. Der Druck von 4—6 Atü in der Hauptleitung wird über 4 Regulierventile auf 1,8 Atü im Zweig reduziert. Die laufende Kontrolle des durchfließenden Luftvolumens erfolgt an 4 Wasserdifferentialmanometern, die den Druckabfall an je einem geeichten Stauventil messen. Der Preßluftverteiler sorgt damit für einen gleichgroßen und gleichbleibenden Betriebsdruck in den nebelerzeugenden Düsen. Störungen in der Luftzuführung, die dadurch bedingt sind, daß sich Partikelchen aus den luftzuführenden Röhren ablösen und in die Düsen geschleudert werden sowie das Absinken des Druckes infolge Kompressorschadens oder zu hoher anderweitiger Luftentnahme aus der Leitung lassen sich an den Differentialmanometern ablesen.

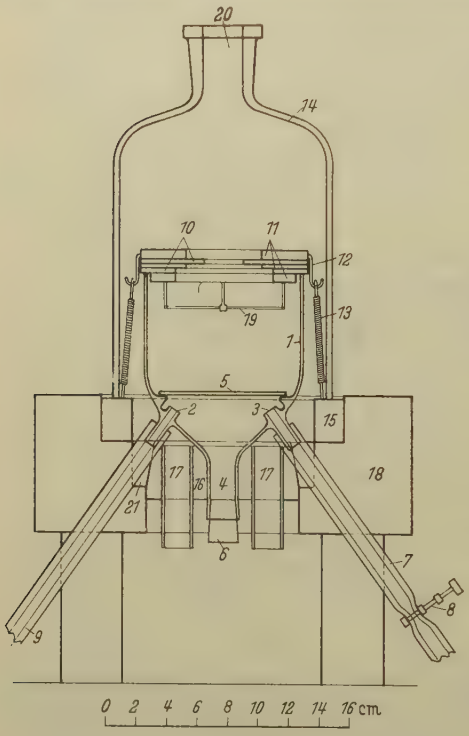


Abb. 2. *1* Glastrog zur Aufnahme des Versuchstieres. *2, 9* Ansatzstutzen zur Mareyschen Kapsel und Schlauchverbindung zur Mareyschen Kapsel. *3, 7, 8* Ansatzstutzen zum Druckausgleich mit Gummirohr und Schraubklemme. *4, 6* Ansatzstutzen für Harn- und Kotentleerung mit Stopfen. *5* Einlegerost. *10—13, 19* Trogdeckel mit Gummidichtung, Spannfedern und Drahtgestell zum Aufsetzen der Vorderpfoten. *14, 20* Glashaube mit Öffnung für die Aerosolzuführung. *15, 16, 18, 21* Werkstücke für die Aufnahme des Troges und der Haube. *17* Abführende Nebelkanäle.

Die nebelabführenden Kanäle werden kurz hinter den Zerstäubern in einer Glasmischkugel zusammengefaßt. Der anschließend zum Versuchsraum führende Schenkel wird durch ein Tyndallmeter hindurchgeleitet, in dem nephelometrische Dichtebestimmungen möglich sind. Dort wird der Nebelstrom von einer konstanten Lichtquelle her durchleuchtet und die Intensität des in den Nebeltröpfchen seitlich abgebeugten Lichtes mit einer Sperrschichtphotozelle gemessen. Eine Verzweigung in der Nebelführung sorgt dafür, daß der in das Versuchsgefäß führende Aerosolstrom zum Teil oder auch ganz um den Versuchsraum herumgeführt werden kann.

Die *Prüfung der Tröpfchengrößen* im Nebel wird vor dem Versuchsbeginn durchgeführt. Wir messen die in den Versuchsraum einfallenden Tröpfchen mit dem Okularmikrometer unter dem Mikroskop. Hierbei dient die Thomasche Zählkammer als Absolutmaßstab. Unser Gerät liefert unter den angegebenen Bedingungen Tröpfchen von 0,5—6 μ Durchmesser.

Der Versuchsraum (Abb. 2) besteht aus einem oben offenen Glastrog, in den das Meerschweinchen aufrecht hineingesetzt wird. Der Kopf des Tieres wird durch

den Deckel des Troges gesteckt. Der Luftraum des Troges ist während des Versuchs geschlossen, denn der Deckel schließt am Trogrand und am Hals des Tieres luftdicht ab. Verbindungen nach außen hat der Trog durch mehrere Ansatzstutzen, von denen einer zur Entleerung von Harn und Kot dient, ein zweiter mit einer Mareyschen Kapsel in Verbindung steht, während ein dritter über ein Ventil direkt in die Außenluft mündet. Über den Trog und den herausragenden Meerschweinchenkopf wird eine Glasglocke gestülpt, in die der Nebelstrom von oben eingeleitet und unter der er abgeführt wird. Der Glockenrand ist durch Eintauchen in eine wassergefüllte Rinne abgedichtet.

Im weiteren Verlauf wird das Aerosol durch ein weitlumiges Rohr in die Außenluft abgeführt. Dort sorgt ein gasbetriebenes *Verbrennungsgerät* für die Vernichtung der organischen Aerosolbestandteile und für einen konstanten leichten Sog in den abführenden Wegen.

Die *graphische Registrierung des Asthmas* erfolgt mit Hilfe einer Mareyschen Kapsel, welche die Druckschwankungen im Troginneren auf eine Kymographionschleife überträgt. Die Mareysche Kapsel ist zwar kein ideales Anzeigegerät für feine Impulse, ihre Empfindlichkeit hat sich bei unseren Versuchen aber als ausreichend erwiesen, so daß wir auf ihren wesentlichen Vorzug, einfach und ziemlich robust zu sein, nicht zu verzichten brauchen. Durch geeignete Dämpfung des Anzeigesystems läßt sich das ganze für den Formcharakter der Atemkurve verantwortliche Frequenzgemisch darstellen. Hierzu wird ein Teil der Druckdifferenz zwischen Troginnerem und Außenluft über ein Ventil ausgeglichen. Der richtige Dämpfungsgrad läßt sich empirisch leicht finden und im Bedarfsfalle neu einregulieren, wenn man während des Asthmaanfalls die Ventilöffnung so lange vergrößert und verkleinert, bis die Einstellung gefunden ist, bei der alle Feinheiten der typischen Asthmakurve am besten aufgezeichnet werden. Befriedigende Ergebnisse bekommt man, wenn die Amplitudengröße nicht weniger als 1,5 mm und nicht mehr als 5 mm (von Spitze zu Spitze gemessen) beträgt (Abb. 4 f). Ein Vergleich der aus dem Troginneren registrierten Druckschwankungen mit einer aus der Atemmaske gewonnenen Druckkurve zeigt in spiegelbildlicher Darstellung eine

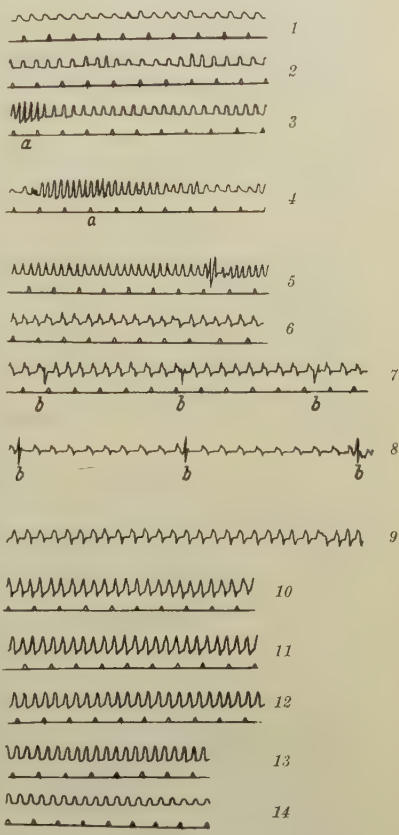


Abb. 3. Ausschnitte aus einer Atemkurve in verschiedenen Krankheitsstadien. *1—3* Normale Atmung. *3a* und *4a* Vorübergehende Erhöhung der Atemfrequenz aus psychischer Ursache. *5* Beginn der kontinuierlichen Tachypnoe. *6* und *7* Mittelschweres Asthma mit typischer in- und expiratorisch veränderter Kurvenzeichnung. Bei *b* rhythmische Unterbrechungen der sonst regelmäßigen Atmung. *8* Schweres Asthma mit erheblicher Behinderung der Atemmechanik. *9—13* Rückläufige Veränderungen beim Auslaufen des Anfalls. *14* Wieder erreichte Normalatmung.

völlige Übereinstimmung des Kurvenverlaufs. Ebenso entsprechen sich die Volumenkurven aus dem Trog und aus der Maske. Unsere Versuchsanordnung registriert demnach ausschließlich Volumenänderungen, die durch Atembewegungen des Versuchstieres bedingt sind. Ein Vergleich von Abb. 4c und d mit Abb. 4e und f zeigt außerdem, daß im unbedämpften Anzeigesystem ausschließlich Volumenschwankungen zur Darstellung kommen, daß aber die Eigentümlichkeiten der im Asthma veränderten Atmung verdeckt werden.

Als *Versuchstiere* verwenden wir junge gesunde männliche oder weibliche Meerschweinchen. Sie werden mit einem Gewicht von 250—300 g in die Versuchsserie

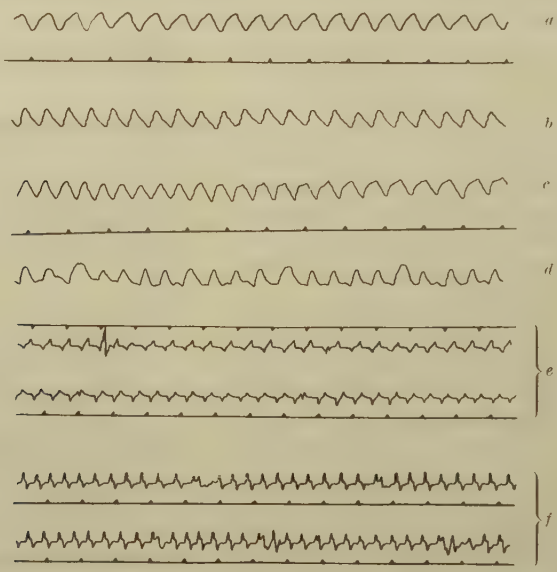


Abb. 4. Vergleich der Atemvolumen- und Druckkurven bei direkter und indirekter Registrierung der Luftvolumenänderungen. *a* Normale Atemvolumenkurve aus der Atemmaske über ein kleines Spirometer geschrieben. *b* Normale Atemvolumenkurve aus dem Trog über das gleiche Meßinstrument geschrieben. *c* Atemvolumenkurve wie bei *a* im Asthmaanfall. *d* Atemvolumenkurve wie bei *b* im Asthmaanfall. *e* Asthmadruckkurve aus der Atemmaske über eine Mareysche Kapsel geschrieben. *f* Asthmadruckkurve aus dem Trog über eine Mareysche Kapsel geschrieben.

eingestellt. Die Fütterung der Tiere richtet sich nicht nach einem starren Schema, sondern hängt von dem jahreszeitlichen Frischfutteranfall ab. Daneben wird Hafer und Heu gegeben. Die Tierkäfige stehen im Freien.

Dem vollständigen Gerät gibt *das Zusammenwirken der einzelnen Bauteile* eine vielseitige Anwendbarkeit. Die Aerolsolerzeugung in 4 gleichartigen Zerstäubern ermöglicht eine weitgehende qualitative und quantitative Veränderung des Nebels während des Versuchs. Die Variationsmöglichkeiten erweitern sich, wenn die Verzweigung der Nebelwege in Betrieb genommen wird, denn durch die Abzweigung eines Teils des Aerosolstromes kann die dem Tier zugeführte Nebelmenge beliebig verringert werden, während das Verhältnis der einzelnen im Aerosol enthaltenen Wirkstoffe zueinander konstant bleibt. Auf diese Weise können asthmaerzeugende und asthmaheilende Mittel einzeln oder gemeinsam

gegeben werden, ihr Mengen- und Konzentrationsverhältnis kann den Versuchsbedingungen und zugleich der Reaktionsweise des Versuchstieres angepaßt werden. Die Aufzeichnung der Atemkurve ermöglicht die Auswertung von Arzneimittelwirkungen. Sie erübrigt allerdings das ständige Beobachten der Versuchstiere nicht. Geringfügige Veränderungen im Verhalten der Tiere, insbesondere beim Austesten von gerade noch wirksamen Grenzkonzentrationen und bei längerer Versuchsdauer, sind aber nur bei graphischer Registrierung genau und unabhängig von subjektiven Einflüssen nachweisbar, soweit die Versuchstiere keine stärkere Rhinitis haben.

Bei der praktischen Anwendung des Gerätes geht man so vor, daß zunächst die einzelnen Zerstäuber mit asthmaerzeugenden Stoffen, Arzneimitteln und Wasser gefüllt werden. Dann wird das Tier in den Versuchsraum gebracht. Schließlich werden 2 Zerstäuber in Betrieb gesetzt, von denen der eine hochkonzentrierte asthmogene Lösung (z. B. m/200 Histaminbiphosphat), der andere aber destilliertes Wasser enthält. Nach Eintreten des Asthmas wird der Histaminzerstäuber durch Unterbrechen der Preßluft abgeschaltet. Wenn das Versuchstier den Höhepunkt des Anfalls überwunden hat und ein mittelschweres Asthma besteht, wird der zweite Histaminzerstäuber eingeschaltet, der eine weniger konzentrierte Lösung (m/1000) enthält. Vernebelt man Antigene, so kann das Umschalten auf eine weniger konzentrierte Lösung überflüssig sein. Wenn im weiteren Verlauf die Konstanz des Asthmas gesichert ist (10 min), kann zu beliebiger Zeit der Wassernebel gegen einen Arzneimittelnebel ausgewechselt werden. Manchmal haben die Tiere vorübergehend eine von der Norm abweichende Empfindlichkeit gegen asthmaerzeugende Substanzen, so daß mit unseren Standardkonzentrationen kein Dauerasthma erreicht wird. Wenn die Tiere abnorm stark empfindlich sind, kann man eine Anpassung versuchen, indem man die Nebelmenge im Inhalatorium verringert. Durch Öffnen des Umgehungsweges und Drosseln der Hauptzuführung wird ein Teil des Aerosols vor dem Eintreten in den Versuchsraum abgeleitet.

Bei der praktischen Anwendung der Registriervorrichtung zeichnen wir zuerst einige Minuten lang die normale Atmung des Tieres auf. Das Meerschweinchen ist während dieser Zeit lediglich dem Wasseraerosol ausgesetzt. Während der anschließenden Einwirkung von asthmaerzeugenden Substanzen beobachtet man am besten sowohl die Kurvenzeichnung als auch das Versuchstier. Die jetzt einsetzenden Veränderungen folgen gewöhnlich rasch aufeinander und müssen sofort erkannt werden. Das Asthma ist in der graphischen Darstellung durch Tachypnoe, durch eine periodische Unterbrechung der Atemrhythmik und vor allem durch eigenartige Veränderungen des einzelnen Atemkurvenzuges gekennzeichnet. Ist ein konstantes Asthma einmal erreicht und hat der 10 min

dauernde Probelauf zur Prüfung der Konstanz begonnen, so wird das Urteil hierüber hauptsächlich vom Verhalten der Atemkurve abhängig gemacht. Das gleiche gilt für die Beurteilung der Arzneimittelwirkung. Eine volle Arzneiwirkung wird dann angenommen, wenn die Atemkurve am Ende des Versuchs in Typ und Frequenz völlig der normalen Ausgangskurve entspricht. Allerdings kann man nicht immer eine ideale Übereinstimmung erhalten. In diesem Falle wird dann eine volle Arzneimittelwirkung angenommen, wenn die asthmabedingten Kurvenveränderungen vollständig geschwunden sind. Ein sicheres Urteil über die Vollständigkeit ergibt sich, wenn man den Versuch nach dem scheinbaren Verschwinden aller Asthmazeichen noch mehrere Minuten lang fortsetzt und das Gleichbleiben der Atemkurve kontrolliert. Die Dauer der einzelnen Versuchsphasen wird laufend mit der Stoppuhr oder nachträglich durch Ausmessen des Kurvenstückes ermittelt (Abb. 3). Über Ergebnisse, die mit Hilfe dieser Versuchsanordnung erzielt wurden, berichten wir in weiteren Arbeiten.

Zusammenfassung.

Es wird über eine Arbeitsmethode berichtet, die es ermöglicht, das durch Histamin- oder Antigenverneblung ausgelöste Meerschweinchenasthma in gleichbleibender Stärke längere Zeit zu erhalten. Eine Registriereinrichtung wird beschrieben, welche den Anfallsverlauf aufzeichnet.

Literatur.

[1] Alexander, H. L., W. G. Becke and J. A. Holmes: J. of Immun. Vol. **XI**: 175 (1925). — [2] Kallòs, P., u. W. Pagel: Acta med. scand. (Stockh.) **91**, 292 (1937). — [3] Schaumann, O.: Medizin und Chemie, Bd. 4. Berlin: Verlag Chemie 1942. — [4] Preuner, R.: Ärztl. Forschg **5**, I/64 (1951). — [5] Preuner, R.: Arzneimittelforschg **1**, 301 (1951). — [6] Waldbott, G. L.: Progress in Allergy, Vol. II. Basel: Karger 1949. — [7] Vallery-Radot, P., P. N. Halpern, J. M. Dubois de Mont Reynaud et V. Pean: Progrès méd. **258**, 661 (1951). — [8] Reichel: Diss. Göttingen (1942). — [9] Basold, A.: Diss. Bonn (1951).

Dr. Hans Friebel, Bonn, Reuterstraße 2b, Pharmakol. Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 21—34 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. Dr. W. Schulemann).

Studien am langdauernden Asthma des Meerschweinchens.

Von
Hans Friebel.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 7. Juni 1952.)

Über das steuerbare tierexperimentelle Asthma haben wir bereits in einer früheren Veröffentlichung berichtet[1]. Dort wurde der Aufbau und die Arbeitsweise eines Geräts beschrieben, in dem beim Meerschweinchen Asthmaanfälle von beliebiger Stärke und Dauer hervorgerufen werden können. An dieser Stelle soll das Verhalten der Versuchstiere im Asthmaanfall beschrieben werden, und zwar sowohl beim Histaminasthma als auch beim allergischen Asthma.

Wenn man Meerschweinchen mit Histamin oder einem Allergen ins Asthma versetzt, dann kommt es zunächst zu einer wenige Minuten dauernden Latenzperiode, in der die Tiere sich je nach ihrem Temperament ruhig oder etwas aufgeregt verhalten und in der die Atmung noch nicht dyspnoisch ist. Die danach auftretenden Veränderungen haben Kallós und Pagel[2] anschaulich beschrieben:

„Unruhe, anfängliche Vermehrung, dann Abnahme der Frequenz der Atemzüge, wobei das zeitliche Verhältnis zwischen Ein- und Ausatmung eine deutliche Veränderung erfährt, indem die Ausatmungszeit zunehmend länger wird. In diesem Zeitpunkt, etwa nach 2minütiger Inhalation, hocken die Tiere in einer eigenartigen Stellung; sie sitzen nämlich auf ihren Hinterbeinen, stützen sich dabei auf die Vorderbeine und beugen ihren Kopf maximal nach hinten. Die Schnauze und Ohren sind deutlich cyanotisch. Die Atmung bekommt durch die relative (später auch absolute) Verkürzung der Einatmung einen schnappenden Charakter. Es kommt zu trockenem, gequältem Husten, der keinerlei Erleichterung bringt. Hört man in diesem Stadium mit der Inhalation auf, so dauert die expiratorische Dyspnoe noch etwa 10 min an. Man hört über beide Lungen erst Pfeifen und Giemen, dann in zunehmendem Maße Rasseln. Mit dem Auftreten der nassen Rasselgeräusche wird auch bei den Hustenstößen zäher, zellarmer (wenig neutrophile Leukocyten) Schleim entleert, und die Dyspnoe klingt langsam ab. Setzt man die Inhalation weiter fort, so ersticken die Tiere in wenigen Minuten, wobei sie vor dem Tode asphyktische Krämpfe aufweisen."

Bei unserer Arbeitsweise wird die Histamin- bzw. Allergen-Inhalation beim Auftreten eindeutiger Asthmazeichen abgebrochen. Man wartet dann, bis der Höhepunkt des Anfalls überschritten ist. Sobald aber eine geringe Erleichterung der Atmung eingetreten ist, wird die Inhalation mit einem weniger wirksamen Aerosol fortgesetzt. Unter der Einwirkung

dieses zweiten Aerosols spielt sich bei der Mehrzahl der Versuchstiere in wenigen Minuten ein mittelschweres Asthma ein, dessen Stärke in der Regel weiterhin völlig gleich bleibt. Nur bei einzelnen Tieren kommt es infolge der Zu- und Abnahme der Dyspnoe zu einem mehr wellenförmigen Asthmaverlauf, wobei die Abweichungen von der gedachten mittleren Linie nicht besonders schwerwiegend sind. Bei *Histaminasthma* kommt es vor, daß der histaminhaltige Nebel (m/1000 Histaminbiphosphataerosol und Wassernebel) nicht stark genug ist, um das Asthma gleichbleibend zu erhalten. In diesen Fällen kann man gewöhnlich nach einer zweiten Asthmaeinleitung mit m/200 Histaminbiphosphat und Wassernebel ein konstant bleibendes Asthma erreichen. Nicht selten werden die Asthmaerscheinungen während der Inhalation von m/1000 Histamin schwerer. In diesen Fällen muß so viel von dem asthmaerzeugenden Nebel vor dem Eintreten in den Versuchsraum abgeleitet werden, daß der Restnebel die Dyspnoe des Versuchstieres nicht mehr verstärkt. Über die Häufigkeit derartiger abweichender Verlaufsformen wird in den nachfolgenden Abschnitten ausführlicher berichtet werden. Beim *allergischen Asthma* ist es in der Regel überflüssig, die Konzentration des Allergens im anfänglich und nach dem Höhepunkt des Asthmas verabreichten Aerosol zu wechseln.

Die Feststellung, daß ein Asthmaanfall gleichbleibend fortbesteht und keine Neigung zeigt, leichter oder schwerer zu werden, kann nach einer kurzen Beobachtungszeit im Anschluß an den Höhepunkt des Anfalls getroffen werden. Wenn sich nämlich 10 min lang keine Erschwerung oder Erleichterung der Dyspnoe ergeben hat, ist nach unserer Erfahrung die Gewähr gegeben, daß auch in der nachfolgenden Beobachtungszeit keine Änderung mehr auftritt. Das Asthma wurde bei Arzneimitteltestungen in der Regel bis zu 50 min ausgedehnt. Vereinzelt haben wir uns davon überzeugt, daß Meerschweinchen über 1½ Std lang ein mittelschweres Asthma ertragen können.

Während des gleichbleibenden Asthmas hocken die Tiere auf den Hinterbeinen und atmen stoßweise, wobei sie auffallend stark ihre Bauchmuskulatur zu Hilfe nehmen. Sie haben nicht das Bedürfnis, sich mit den Vorderpfoten anzuklammern oder aufzustützen. Der Kopf wird mehr oder minder stark gehoben, das Maul ist geschlossen, die Nüstern sind gebläht. Husten tritt nicht oder nur ausnahmsweise — und dann in unbedeutender Stärke — auf. Schnupfen sieht man beim *Histaminasthma* selten, beim *allergischen Asthma* sehr häufig. Die Tiere verhalten sich ganz ruhig, atmen gleichmäßig und unternehmen in der Regel keine Befreiungsversuche. Wird die Zufuhr von asthmaerzeugendem Aerosol abgebrochen, so schwinden die Asthmaerscheinungen nach einigen Minuten. Die Rückkehr zur normalen Atmung erfolgt bei Tieren, die einen langdauernden Asthmaanfall durchgemacht haben, ebenso schnell und

vollständig wie bei Tieren, bei denen das Asthma nur wenige Minuten gedauert hat. Nach der *Allergeninhalation* tritt die normale Atmung später ein als nach der *Histamininhalation*.

Im Mittelpunkt unserer Versuchsanordnung steht also das Stadium des langdauernden, gleichmäßigen Asthmaanfalls und nicht — wie bei der bisherigen Arbeitsweise — das des beginnenden Asthmaanfalls. Während dieses langdauernden Asthmas können leichtere oder schwerere dyspnoische Krankheitserscheinungen bestehen. Das *Histaminasthma* läßt sich bei geeignetem Vorgehen auf jedes gewünschte Niveau einsteuern. Beim *allergischen Asthma* spielt sich in der Regel ein mittelschweres Asthma ein, das von der Menge und Konzentration des zugeführten allergenhaltigen Aerosols weitgehend unabhängig ist.

Die Dauer des Anfalls hängt beim *Histaminasthma* von der Dauer der Histamininhalation ab. Das Asthma kann daher bis zur Erschöpfung der Atemmuskulatur unterhalten werden. Beim *allergischen Asthma* kann man nicht bei allen Tieren mit einer so unmittelbaren Bindung der Anfallsdauer an die Dauer der Antigeninhalation rechnen. Meerschweinchen, die zur zögernd, zum Teil erst nach mehrfachen vergeblichen Versuchen erstmalig ein leichtes Asthma bekommen, verlieren manchmal alle Zeichen der Dyspnoe noch während der Antigeninhalation. Aber schon nach einem oder mehreren weiteren Versuchen bleibt auch bei diesen Tieren das Asthma unverändert während der ganzen Inhalationsdauer bestehen. Zur Zeit können wir noch nicht angeben, ob die zunehmende Asthmabereitschaft der sensibilisierten Tiere von einer Zunahme der in der Lunge vorhandenen Antikörper, von der Reflexbahnung oder irgendeinem anderen Faktor abhängt. Für die praktischen Zwecke der Arzneimittelprüfung an sensibilisierten Tieren genügt es, nur solche Tiere zu Testversuchen heranzuziehen, deren Asthma über 60 min unverändert bestehen bleibt.

Beabsichtigt man an einer Reihe von Meerschweinchen vergleichende Untersuchungen durchzuführen, so muß jedes Tier gleich schwere Krankheitserscheinungen aufweisen. Beim *Histaminasthma* kann man die Versuchsbedingungen der individuellen Reaktionsweise jeweils anpassen. Für das Histaminasthma eignet sich daher jedes Meerschweinchen. Beim *allergischen Asthma* erübrigt sich eine derartige Einstellung. Tiere, die im Probelauf ein zu heftiges oder zu geringes Asthma haben, werden zurückgestellt. Diese Auswahl geeigneter allergischer Tiere ist schon die zweite Sortierung, denn bei jedem sensibilisierten Tier muß 6 Wochen nach der Erstinjektion des Allergens geprüft werden, ob die Sensibilisierung erfolglos geblieben ist, ob es nach der Allergeninhalation nur zur vasomot. Rhinitis oder aber zum Asthma kommt. Tiere, die einmal ein richtiges Asthma bekommen haben, reagieren bei späteren Versuchen in der Regel immer wieder mit Asthma.

Wie unterscheiden sich nun verschiedene Grade der asthmatischen Dyspnoe untereinander bzw. von der normalen Atmung des unbehandelten Meerschweinchens?

Bei *unbehandelten, gesunden Meerschweinchen* verläuft die Atmung recht unterschiedlich. In ihr spiegeln sich die morphologischen Gegebenheiten, das Temperament, die Stimmung, Erlebnisreaktionen wieder. Die Atmung kann ruhig oder frequent, ihr Verlauf kann gleichförmig oder wechselvoll sein. Sperrt man die Tiere in den Trog unseres Vernebler-gerätes, so kommt es bei den meisten zu einem Erregungszustand, der mit einer vorübergehenden oder längerdauernden Steigerung der Atemfrequenz einhergeht. Eine stärkere und längeranhaltende Irritierung wird erst durch das Geräusch der luftdurchströmten Zerstäuber hervorgerufen.

Besondere Aufmerksamkeit muß man der Atmung *allergischer Tiere* widmen, die mehrfach im Versuch gewesen sind. Sie geraten nicht selten schon ins Asthma, ehe die Inhalation von Allergen begonnen hat, also aus „nervösen" (psychischen?) Gründen. Wenn derartige Anfälle erst während der Inhalation auftreten, sind sie schwer zu erkennen. In der Regel gelingt es aber auch dann, sie als „nervös" bedingt zu entlarven, wenn man irgendeine den Meerschweinchen ungewohnte Veränderung am Versuchsgerät vornimmt. Das Asthma sistiert dann plötzlich, denn der „nervös" bedingte Anfall läßt sich abbrechen, während der antigenbedingte nach Abschluß der Inhalation langsam ausläuft. Bei Meerschweinchen, die des öfteren im *Histamin*versuch waren, treten „nervöse" asthmaähnliche Reaktionen selten, unvollkommen und erst gegen Ende des Versuches auf, diese Tiere fixieren manchmal den asthmatischen Atemtyp länger als notwendig.

Bei der Auswertung von ca. 700 Histamin-Asthmaanfällen und ca. 175 allergischen Asthmaanfällen an insgesamt 157 Meerschweinchen haben wir die Überzeugung gewonnen, daß das Auftreten des „nervös" bedingten Asthmas bei sensibilisierten Tieren nicht zufällig erfolgt, sondern mit der Sensibilisierung im Zusammenhang steht. Wir haben keine Versuche unternommen, durch bestimmte, hierauf ausgerichtete Anordnungen „nervös" bedingte Asthmaanfälle auszulösen.

Unsere Beobachtungen ergaben sich aus der Erfahrung, daß Tiere, die vor Beginn der Allergeninhalation eine Zeitlang unbeaufsichtigt im Untersuchungsraum gesessen hatten, weil der Untersuchende vorübergehend abgerufen wurde, nach seiner Rückkehr einen Asthmaanfall hatten. In zwei sehr typischen Fällen konnten wir die Einatmung auch nur geringster Allergenspuren aus der Raumluft ausschließen, da es sich um den ersten Versuch am Tage handelte. Wenn das „nervös" bedingte Asthma vor Beginn der Allergeninhalation auftrat, haben wir es bis zu 30 min Dauer beobachtet, anschließend durch akustische oder schmerzhafte Reize abgebrochen und dann erst die Allergeninhalation durchgeführt. Das durch Allergen ausgelöste Asthma verlief gewöhnlich leichter als das vorausgegangene „nervös" bedingte Asthma. Tiere, die einen „nervös" bedingten Anfall produziert hatten, zeigten bei späteren Asthmaversuchen gewöhnlich wieder ein regelrechtes

Verhalten und bekamen erst nach der Allergeninhalation Asthma. Bei dieser Unregelmäßigkeit im nicht absichtlich herbeigeführten Auftreten „nervös" bedingter Asthmaanfälle schien eine zahlenmäßige Erfassung und Auswertung im Vergleich zur Zahl der allergenbedingten Anfälle wenig sinnvoll zu sein.

Befinden sich die Meerschweinchen im Asthmaanfall, so tritt eine Reihe eigentümlicher Veränderungen mit absoluter Regelmäßigkeit auf. Zu den stets nachweisbaren Abweichungen gehört eine periodische Unterbrechung des Atemrhythmus durch außergewöhnliche, meist vertiefte Atemzüge. Weiterhin kommt es im Zusammenhang mit der Erschwerung der Atmung zu Knickbildungen im Verlauf der kymographisch registrierten Atemkurven, die in Parallele zu der Hemmung des Luftaustausches mehr oder minder stark hervortreten. Schließlich stellt sich mit stärker werdender Dyspnoe regelmäßig eine Verlangsamung der Atemfrequenz ein. Beim Histaminasthma kommt es zugleich mit dem Beginn des Anfalls häufig zu einer Steigerung der Frequenz; sensibilisierte Tiere beschleunigen die Atmung nicht. Auch beim Auslaufen des Asthmas tritt häufig eine Tachypnoe auf. Die Bauchatmung ist regelmäßig dem Grad der Atemerschwerung entsprechend verstärkt. Eine geringere Betonung der Bauchatmung und Steigerung der Atemfrequenz für sich allein sind keine sicheren Asthmazeichen. Die graphische Darstellung der typischen Eigenheiten der Asthmaatmung wird gestört, wenn die Tiere eine erhebliche Rhinitis bekommen. Bei allergischen Meerschweinchen, die sehr oft während des Asthmaanfalls auch eine allergische Rhinitis bekommen, kann die Auswertung der Atemkurve unter Umständen sehr schwer sein und bei der Diagnose hinter die Beobachtung der Atmungsbewegungen am Versuchstier zurücktreten.

Eine klare Abgrenzung der beginnenden asthmatischen Dyspnoe von einfachen emotionell bedingten Veränderungen des Atemtyps ist daher möglich, wenn die nachfolgenden Merkmale berücksichtigt und richtig bewertet werden: Ein dyspnoischer Zustand, der durch stärkeres Hervortreten der Bauchatmung, durch rhythmische, kurzdauernde Unterbrechungen der regelmäßigen Folge von Atemzügen, manchmal durch Erhöhung der Atemfrequenz ausgezeichnet ist, wird von uns als „leichtes Asthma" bezeichnet. Deutliche Erschwerung der Ein- und Ausatmung, normale oder geringfügig verlangsamte Atemfrequenz bei erheblicher Mitarbeit der Bauchdeckenmuskulatur kennzeichnet das „mittelschwere Asthma". Weitere Erschwerung der Atmung mit erheblichen Anstrengungen, die Hemmung zu überwinden, gequältes Aussehen des Versuchstiers, leichte Cyanose findet sich beim „schweren Asthma". Es ist uns bewußt, daß wir damit eine im wesentlichen nach „klinischen" Gesichtspunkten aufgestellte Einteilung getroffen haben, und daß damit der Prüfer in einem begrenzten Umfang subjektiv in der Auswertung vorgehen muß. Das ist aber — jedenfalls zur Zeit — unvermeidbar, wenn

man Differenzen zwischen der tierexperimentellen Arzneimittelprüfung und der Erprobung am kranken Menschen dadurch vermeiden will, daß man die tierexperimentelle Testmethode dem menschlichen Krankheitsbild möglichst vergleichbar gestaltet.

Wir haben in Abb. 1 typische Atemkurven für das leichte, mittelschwere und schwere Asthma wiedergegeben. Diese „Musterkurven" haben eine große Zahl von Varianten, auf deren Wiedergabe wir verzichten müssen. Klare, objektiv faßbare Charakteristica lassen sich an Hand dieser Kurven angeben, sie treffen aber nur bedingt für die große

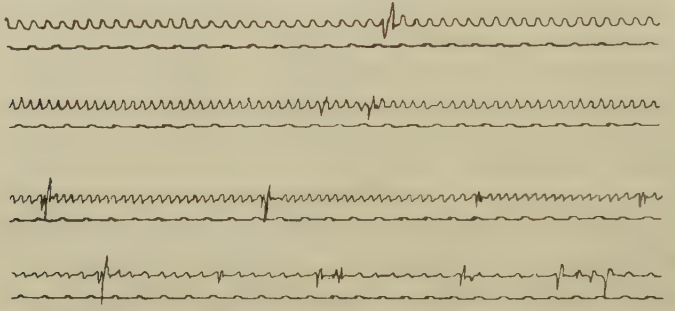


Abb. 1. Kurve 1: Normalatmung eines Meerschweinchens, über ein bedämpftes System aufgenommen und kymographisch geschrieben. Kurve 2: Leichtes Asthma beim gleichen Tier. Knickbildungen im auf- und absteigenden Schenkel. Kurve 3: Mittelschweres Asthma mit gehäuften rhythmischen Unterbrechungen der Atemzugfolge. Komplizierung der Knickbildung im aufsteigenden Schenkel. Kurve 4: Schweres Asthma. Gehäufte rhythmische Unterbrechungen der Atemzugfolge. Verbreiterung des aufsteigenden Schenkels von links nach rechts sich steigernd. (Aufsteigender Schenkel = Inspiration, absteigender Schenkel = Exspiration.) Abnahme der Amplitudengröße.

Zahl der Varianten und Übergangsformen zu. Die Beurteilung des Asthmaverlaufs läßt sich daher besser bei der Betrachtung der fortlaufend geschriebenen Atemkurve als mit Hilfe der in Abb. 1 wiedergegebenen Abschnitte durchführen.

Bei der Asthmaeinleitung bestimmen vorwiegend 2 Faktoren den Verlauf der Versuche: Die Geschwindigkeit, mit der es zum Anfall kommt, und die Neigung, einen leichteren oder schwereren Krankheitsverlauf auszubilden.

Über die Geschwindigkeit, mit der nach Beginn der Inhalation der Asthmaanfall auftritt, werden beim *Histaminasthma* unterschiedliche Angaben gemacht. Kallòs und Pagel bemerkten bei der Vernebelung einer Histaminlösung 1:1000, daß sich 2 min nach Beginn der Inhalation die ersten Krankheitszeichen einstellen. Schaumann fand bei gleichen Versuchsbedingungen, daß 90% der Tiere innerhalb von 3½ min reagieren. Wir verwenden nicht die übliche Lösung 1:1000, sondern, wie anfangs beschrieben, „molare" Lösungen von Histaminbiphosphat und mischen den histaminhaltigen Nebel, ehe er das Tier erreicht, mit einem Nebel aus Wasser. Unsere Aerosole lassen sich also nur mit Einschränkung mit denen von Kallòs[2] und Schaumann[3] vergleichen.

Unterschiedliche Wirkungen beim Versuchstier werden aber nicht nur durch die Histaminkonzentration im Aerosol, sondern auch durch die Tröpfchengröße und die Nebeldichte hervorgerufen. Danach spielen auch Faktoren, die durch die Gerätkonstruktion bedingt sind, für den Eintritt und den Verlauf des Asthmas eine erhebliche Rolle. Im Ganzen erscheint die Wirkung unseres m/200 Histamin-Wasser-Aerosols etwas milder zu sein, als die der Nebel von Kallós und Schaumann. In Tab. 1 sind Schaumanns[3] und unsere Ergebnisse zusammengefaßt.

Tabelle 1. *Histaminasthma.*

Zeit bis zum Eintritt schwerer Symptome in Minuten	1	1½	2	2½	3	3½	4	4½ und länger
Zahl der Tiere in jeder Gruppe								
Schaumann	17	41	29	24	10	13	5	6
Friebel	4	8	6	7	3	3	1	9
Gesamtzahl bis zum betr. Zeitpunkt in %								
Schaumann	11,7	40,0	60,0	76,6	83,5	92,4	95,9	100
Friebel	9,8	29,3	43,9	61,0	68,3	75,6	78,1	100

Schnelligkeit des Asthmaeintrittes nach Beginn der Inhalation (Einteilung und Beschriftung der Tab. 1 nach Schaumann).

Vergleicht man nun die Schnelligkeit, mit der der Asthmaanfall eintritt, mit der Neigung, eine leichtere oder schwerere Verlaufsform zu bilden, so zeigt sich, daß die Beziehungen der beiden Funktionen zueinander nicht ohne weiteres erkennbar sind. In Tab. 2 haben wir die Meerschweinchen an Hand der Zeit, die vergeht, bis sie ihren Anfall bekamen, in Gruppen eingeteilt. Weiterhin ist angegeben, bei wieviel

Tabelle 2. *Histaminasthma.*

Zeit bis zum Eintritt schwerer Symptome	Zahl der Tiere	Zahl der Tiere, bei denen die Nebelmenge gedrosselt wurde				nicht gedrosselt wurde
		+	++	+++	Summe	
1	4	2	—	—	2	2
1½	8	—	1	2	3	5
2	6	2	1	—	3	3
2½	7	3	—	1	4	3
3	3	1	—	1	2	1
3½	3	1	—	—	1	2
4	1	—	—	—	—	1
4½ u. mehr	9	—	—	—	—	9

+, ++, +++ bezeichnen verschiedene Grade der Drosselung. Schnelligkeit des Asthmaeintritts und Schwere des Asthmaabfalls (letzteres durch Drosselung des Nebelstroms charakterisiert).

Tieren jeder Gruppe im weiteren Verlauf des Asthmas ein so schweres Asthma entstand, daß der Aerosolstrom zum Inhalatorium gedrosselt werden mußte.

Von 31 Tieren, bei denen der Anfall 1—3½ min nach Beginn der m/200 Histamininhalation auftrat, bekamen 15 unter der langdauernden Einwirkung des m/1000 Histamin-Wasseraerosols ein zunehmend schwerer werdendes Asthma. Von 10 Tieren, die erst asthmatisch wurden, nachdem das m/200 Histamin über 3½ min lang inhaliert worden war, konnten alle 10 die volle Nebelmenge des m/1000 Histamins bei gleichbleibenden Asthmaerscheinungen länger als 40 min ertragen. Demnach bestand bei den schnell reagierenden Tieren in 50% der Fälle die Neigung zu einem schweren Verlauf des Asthmaanfalls. Tiere, bei denen es langsam zum Wirkungseintritt kam, hatten auch im weiteren Verlauf fast immer ein leichteres Asthma. Ausnahmen von der Regel haben wir in der letzten Gruppe bei Tieren gesehen, die mehrfach im Versuch gewesen sind. Die Geschwindigkeit, mit der ein asthmaerzeugender Reiz mit dem Asthmaanfall beantwortet wird und die Bereitschaft, auf einen solchen Reiz hin leichter oder schwerer zu erkranken, verlaufen also nicht völlig parallel, sie sind vielmehr unabhängig voneinander ablaufende Funktionen. Aus den Aufstellungen geht gleichzeitig hervor, daß individuelle Eigentümlichkeiten der einzelnen Versuchstiere den Versuchsablauf weitgehend modifizieren können und daher berücksichtigt werden müssen.

Das *allergische Asthma* bei sensibilisierten Tieren (mit 0,5 cm³ einer Eiklarlösung 1:5 sensibilisiert) tritt bei der Verneblung einer Eiklarlösung 1:10 ebenso schnell ein wie das Histaminasthma (Tab. 3).

Tabelle 3. *Allergisches Asthma.*

Zeit bis zum Eintritt schwerer Symptome in Minuten beim 1. Asthmaanfall	1	1½	2	2½	3	3½	4	4½ und länger
Zahl der Tiere in jeder Gruppe	7	2	4	2	5	3	6	8
Gesamtzahl bis zum betr. Zeitpunkt in %	18,9	24,3	35,1	40,5	54,0	62,0	78,3	100

Schnelligkeit des Asthmaeintritts nach Beginn der Inhalation.

Auch hier sind die Schnelligkeit des Asthmaeintritts und die Neigung, leichtere oder schwerere Verlaufsformen auszubilden, getrennte Funktionen (Tab. 4).

Im folgenden wird am Beispiel von je 5 Meerschweinchen, die wiederholt Asthmaanfälle durchgemacht haben, gezeigt, daß die Reaktionsbereitschaft gegen *Histamin bzw. das Allergen* unverändert erhalten

Tabelle 4. *Allergisches Asthma.*

Zeit bis zum Eintritt schwerer Symptome	Zahl der Tiere	Zahl der Tiere, bei denen die Nebelmenge gedrosselt wurde				nicht gedrosselt wurde
		+	++	+++	Summe	
1	7	1	—	—	1	6
1½	2	—	—		—	2
2	4		—		—	4
2½	2	1	—		1	1
3	5	1	—	—	1	4
3½	3	—	—		—	3
4	6		—			6
4½ u. mehr	8	1	—		1	7

Schnelligkeit des Asthmaeintrittes und Schwere des Asthmaanfalles.

bleibt, wenn die Tiere nicht häufiger als einmal in der Woche in den Versuch genommen werden. In Tab. 5 geben die eingetragenen Zahlen an, wieviel Minuten von Beginn der Histamininhalation bis zum Auftreten des Asthmas bei jedem von 12 aufeinanderfolgenden Versuchen vergehen. (Striche bedeuten, daß kein Asthmaanfall eingetreten ist.) In Tab. 6 werden die entsprechenden Zahlen für sensibilisierte Tiere angegeben.

Tabelle 5. *Histaminasthma.*

Meerschw. Nr.	Versuch Nr.											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
7	2½	2½	—	4	1	1½	1	3½	4	2	2	4
8	6	2	2½	2	10	2½	2	2½	1½			
10	1½	3½	7	2½	2	2½	1½	3	3	4	3	3
11	2	4	7½	4	6	7	4	—	7	5½	6	
15	3½	3	2	5	3½	6	3½	—	5½	8	3	13

Schnelligkeit des Asthmaeintritts in aufeinanderfolgenden Versuchen.

Tabelle 6. *Allergisches Asthma.*

Meerschw. Nr.	Versuch Nr.											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
60	1½	1	7	2	3½	5	3	3	2½			
87	3	3	4½	4½	—	5	3	4	4			
102	4	1	4	3½	8	2	4	3	4	4½		
104	5	2½	5	3	4	10	3	8	3	5	2	
149	½	1½	1½	2	2½	2½	3	4				

Schnelligkeit des Asthmaeintritts in aufeinanderfolgenden Versuchen.

Tab. 7 und 8 geben bei *Histamin- und allergischen Meerschweinchen* an, ob und wie stark der Nebelstrom zum Inhalatorium gedrosselt werden mußte, damit ein mittelschweres Asthma zustande kam.

Tabelle 7. *Histaminasthma.*

Meerschw. Nr.	Versuch Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
7			∅	—				—		—		
8	—			—								
10	+++	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	++
11	+	—	—	—	+	+	+	∅	—		—	
15	—	—	—	++	—	—	+	∅	—	—	—	

∅ = Das Asthma ist innerhalb von 15 min nicht eingetreten. Die Drosselung des Nebelstroms ist ihrem Grad nach mit +, ++, +++ bezeichnet. Empfindlichkeit gegenüber dem Histamin bei aufeinanderfolgenden Versuchen.

Tabelle 8. *Allergisches Asthma.*

Meerschw. Nr.	Versuch Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
60	—		—	—		—		—				
87	+	—	+	—	∅		—	—	—			
102	—	—	—	+		—	—		—			
104	+	—	—	—	—	—	—			—		
149	—	—	—	—	—	—	—					

Empfindlichkeit gegenüber dem Allergen bei aufeinanderfolgenden Versuchen.

Alle diese Beobachtungen zeigen, daß individuell verschiedenartige Asthmaverläufe beim gleichen Versuchstier in unberechenbarer Weise auftreten und verschwinden können. Diese Feststellung trifft sowohl für das Histaminasthma als auch für das allergische Asthma zu. Man kann nicht mehrere Tiere gemeinsam in einen Versuch nehmen, sondern muß die Versuchsbedingungen der jeweiligen Reaktionsweise jedes einzelnen Meerschweinchens anpassen. Die Tiere lassen sich weder im Sinne von Schaumann[3] „eichen" noch ist es erforderlich, sie nach 5 Versuchen auszusondern, wie Lindner[4] es tat, der eine Gewöhnung an Histamin befürchtete.

Im Zusammenhang mit dem Asthma tritt häufig Rhinitis und Bronchitis auf. Wenn die Versuchstiere unmittelbar nach dem Histaminasthma ins Freie gebracht werden, erkranken sie in größerer Zahl an Bronchitis oder Bronchopneumonie und gehen daran zugrunde. Wir haben sie im Winter in geheizten Räumen verwahrt, im Sommer kommen sie erst 24 Std nach dem Anfall in ihre Freiluftkäfige. Beim *allergischen*

Asthma werden entzündliche Vorgänge in den Atemwegen anscheinend weniger stark provoziert als beim *Histaminasthma* (über die Keimvermehrung in der Meerschweinchenlunge nach Histamin haben wir an anderer Stelle berichtet[5]), aber wir fanden hier sehr häufig eine vasomotorische Rhinitis. Diese Rhinitis tritt bei Antigeninhalation unabhängig vom Asthma auf, sie erscheint bei Tieren, die gar kein Asthma bekommen, sie begleitet leichtes, mittelschweres oder schweres Asthma, sie kann aber auch bei asthmatischen Tieren fehlen oder nur zeitweise auftreten. Ebenso, wie bei sensibilisierten Tieren das Asthma an manchen Tagen nicht hervorgerufen werden kann, bleibt auch die Rhinitis hin und wieder bei Tieren aus, die sie sonst regelmäßig haben. Im allgemeinen, aber nicht immer, tritt sie als Zeichen der Sensibilisierung früher in Erscheinung als das Asthma, d. h. Tiere, die bei der ersten Exposition noch kein Asthma bekommen, haben schon ihre allergische Rhinitis und bekommen erst beim 2. oder 3. Versuch das Asthma hinzu. Das Auftreten des Asthmas wird durch eine gleichzeitige Rhinitis nicht verhindert.

Stellt man abschließend die Merkmale des *Histaminasthmas* denen des *allergischen Asthmas* gegenüber, so ergibt sich eine außerordentliche Übereinstimmung im äußeren Bild des Anfallsverlaufs. Die Schnelligkeit, mit der es zum Anfall kommt, das klinisch gleichartige Bild beim leichten, mittelschweren und schweren Asthma, das baldige Schwinden aller Asthmazeichen nach Ende der Inhalation von asthmaerzeugenden Substanzen sind sehr ähnlich. Übereinstimmung besteht weiterhin hinsichtlich der Wiederverwendbarkeit der Tiere und beim Auftreten vorübergehender Schwankungen in der Empfindlichkeit gegenüber asthmaerzeugenden Substanzen.

Demgegenüber bestehen aber auch tiefgreifende Unterschiede, deren Kenntnis von wesentlicher Bedeutung für das Verständnis des allergischen Bronchialasthmas sind:

1. Beim langdauernden *Histaminasthma* kommt es im wesentlichen zum Bronchospasmus und zu geringeren sekretorischen Reizfolgen in den Lungen (Giemen und Pfeifen). Beim *allergischen Asthma* gewinnt die sekretorische Komponente beim Anfall ein erhebliches Schwergewicht. Die Sekret- und Schleimabsonderungen beschränken sich nicht nur auf den Bronchialbaum, sie betreffen meist auch den Nasen-Rachenraum. Die Dyspnoe wird in diesem Falle nicht allein durch den Bronchospasmus, sondern auch in einem erheblichen Ausmaß durch das Schleimhautödem und den abgesonderten Schleim hervorgerufen. Bei sorgfältiger Beobachtung kann man erkennen, daß gegenüber der stoßweisen Bauchatmung histaminasthmatischer Tiere eine mehr protrahierte und elastische Kraftanstrengung notwendig ist, um der Verringerung des Luftaustausches zu begegnen, und daß nach dem Erstickungstod im Asthmaanfall die Lungenblähung bei allergischen Tieren länger anhält als bei

Histamintieren. Wir nehmen an, daß die durch Ödembildung und Schleimabsonderung komplizierten spastischen Veränderungen ein schwerer zu überwindendes und länger bestehendes Hindernis darstellen als der muskuläre Spasmus.

2. Bei *Histaminasthma* ist die Schwere des Anfalls immer abhängig von der Konzentration der vernebelten Histaminlösung und von der Nebelmenge im Inhalatorium. Der Verlauf des Asthmaanfalls kann durch Änderung dieser Faktoren zu jeder Zeit schwerer oder leichter gestaltet werden, man kann das Asthma sogar jederzeit bis zur Erstickung steigern. Beim *allergischen Asthma* ist der Verlauf des Anfalls weitgehend unabhängig von der Dosierung des inhalierten Allergens, sobald sich das Asthma einmal eingespielt hat. Hier können sehr empfindliche Tiere meist nur im Augenblick des initialen Höhepunkts des Anfalls ersticken. Diese stärkere Gefährdung in der initialen Phase besteht bei allergischen Tieren nur während der ersten Anfälle. Später kommt es zu einem weicheren Übergang ins Asthma, der initiale Höhepunkt fällt manchmal sogar weg. Die Antigenzuführung kann während der ganzen Versuchsdauer unverändert bleiben. Derartige Verlaufsformen kommen beim Histaminasthma nicht vor.

Beim sensibilisierten Tier gehen demnach 2 Entwicklungen nebeneinander her: a) Nach der Antigeninjektion kommt es zur Sensibilisierung, die sich bei der späteren Inhalation des Antigens klinisch in einigen Fällen als Rhinitis vasomotorica, in anderen als Asthma zeigt. Manchmal spielt sich erst nach mehrfacher Exposition ein Asthma ein, so daß man, wie es vom Bronchialasthma des Menschen bekannt ist, die Rhinitis als Vorläufer des Asthmas ansehen kann und das Asthma als Zeichen zunehmender Schockbereitschaft werten muß. b) Bei Tieren, die mit großer Schockbereitschaft in den ersten Asthmaversuch gehen, kommt es nach der Antigeninhalation zunächst zu einem lebensbedrohenden Erstickungszustand. Wird er durch Unterbrechung der Inhalation überwunden, so kann er beim gleichen Versuch nur selten noch einmal provoziert werden. Das Asthma wird meist nicht mehr so schwer, daß das Tier erstickt, es wird unabhängig von der Antigendosis. So gelingt es schon nach wenigen Asthmaanfällen in Intervallen von ca. 1 Woche nicht mehr, den initialen Schock hervorzurufen, obwohl das langdauernde Asthma, das jeweils erzeugt wird, bei wiederholten Versuchen so schwer sein kann wie bei den ersten. Allmählich werden aber auch die langdauernden Asthmaphasen etwas leichter und für das Tier besser erträglich.

Es kommt also bei allergischen Meerschweinchen nebeneinander zu einer größeren Empfindlichkeit gegenüber dem Antigen, wenn die Asthmabereitschaft anfänglich gering ist. Es kommt zu einem Abnehmen der Schockbereitschaft, wenn die Tiere zu empfindlich sind. Wir schließen

hieraus, daß das allergische Bronchialasthma einerseits als Folge einer zunehmenden Sensibilisierung zustande kommt und zusammen mit der Sensibilisierung schwerer werden kann, daß es aber andererseits auch einer regulierenden Funktion unterliegt, die das Ausmaß der Krankheitserscheinungen begrenzt, und zwar um so besser, je öfter sie durch die Wiederholung der Anfälle in Anspruch genommen wird. Vergleicht man im Hinblick hierauf das Histaminasthma mit dem allergischen Asthma, so zeigt sich, daß diese Schutzfunktion nur beim allergischen Asthma beobachtet werden kann. Wir halten es für wahrscheinlich, daß sie in der Pathophysiologie des menschlichen Asthmas ebenfalls eine Rolle spielt.

3. Tiere, die mehrmals *allergische* Asthmaanfälle durchgemacht haben, können derartige Anfälle auch auf „nervös" bedingter Grundlage produzieren. Meerschweinchen, die mehrmals im *Histamin*versuch waren, haben derartige „nervös" bedingte Reaktionen nur sehr selten und unvollkommen. Wir schließen hieraus, daß die *Sensibilisierung* die Bahnung für bestimmte erlernbare Reflexe erleichtert.

In den letzten Jahren ist auf Grund experimenteller Arbeiten mehrfach darauf hingewiesen worden, daß dem uniformen klinischen Bild des Bronchialasthmas sehr differente pathophysiologische Funktionen zu Grunde liegen müssen. Kallós und Pagel[2] fanden histologisch bedeutende Unterschiede in den Lungen von Meerschweinchen, welche entweder Histaminasthma oder allergisches Asthma gehabt hatten. Gewebseosinophilie und das vermehrte Auftreten von Becherzellen in der Bronchialschleimhaut nach allergischen Asthmaanfällen ließ sich bei Histaminbehandelten Tieren nicht nachweisen. Kallós und Kallós-Deffner[6] erweiterten diese Arbeiten und zeigten, daß es nach Ziegenserum beim Meerschweinchen zu einem Asthma kommt, bei dem der muskuläre Spasmus zur Dyspnoe führt, während Aalserum, das ebenfalls Asthmaanfälle auslöst, zur Gefäßschädigung und hämorrhagischen Erscheinungen führt. Herxheimer[7] zeigte, daß beim Menschen ebenfalls je nach der Art des anfallproduzierenden Mittels verschiedenartige Anfalltypen hervorgerufen werden können.

Unsere Studien erweitern die Kenntnis der dem allergischen Asthma zu Grunde liegenden Partialfunktionen in zweifacher Hinsicht:

Wir konnten zeigen, daß die Sensibilisierung und das Erlebnis des Anfalls einzelne Versuchstiere befähigt, das klinische Asthmasyndrom auch „nervös" bedingt, also ohne Provokation durch eine lokale Antigen-Antikörperreaktion, zu produzieren.

Während der Niederschrift dieser Arbeit wurde uns bekannt, daß Noelpp[8] bei Meerschweinchen reflexbedingte Asthmaanfälle provoziert hat. Zugleich mit dem Auftreten der Stenoseatmung nach der Inhalation asthmogener Substanzen gab er akustische Signale (Summertöne, Verneblergeräusch). Nach mehreren Anfällen dieser Art konnte er bei einigen Tieren mit den akustischen Reizen auch ohne Koppelung an die asthmaerzeugenden Substanzen dyspnoische Zustände auslösen. Noelpp berichtet, daß er die auf den akustischen Reiz hin auftretende Dyspnoe erheblich besser bei den sensibilisierten Tieren als bei Tieren, die Histaminasthma gehabt hatten, hervorrufen konnte.

Noelpp ist demnach an seinen dressierten Tieren zu Ergebnissen gekommen, die mit unseren im wesentlichen übereinstimmen: *Die Sensibilisierung erleichtert die Bahnung „psycho"-nervöser Reflexe.* Wir glauben daher, daß die Injektion von Fremdeiweiß den Organismus zu Funktionen anregt, die über die spezifische Antikörperbildung hinausgehen und zu Veränderungen im Nervensystem führen können.

Weiterhin tritt bei allergischen Meerschweinchen schon während der ersten Asthmaanfälle eine *regulierende Funktion* in Kraft, welche die Überwindung des initialen Höhepunkts im Anfall erleichtert und im weiteren Verlauf des Anfalls der Steigerung der Krankheitserscheinungen bis zur Erstickung entgegenwirkt. Sie wird mit zunehmender Anfallszahl immer wirkungsvoller und macht den Verlauf des Asthmaanfalls von der Menge des inhalierten Antigens weitgehend unabhängig. Auch diese Funktion steht im Zusammenhang mit der Sensibilisierung; bei Tieren, die mehrere Anfälle von Histaminasthma durchgemacht haben, läßt sie sich nicht nachweisen.

Frau Eva Plag danke ich für die wertvolle Mitarbeit bei der Durchführung der Versuche.

Literatur.

[1] Friebel, H., u. A. Basold: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — [2] Kallós, P., u. W. Pagel: Arch. Med. scand. Vol. XCI/III, 292 (1937). — [3] Schaumann, O.: Medizin u. Chemie, Bd. IV. Verlag Chemie 1942. — [4] Lindner, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 328 (1950). — [5] Friebel, H., A. Basold u. Th. Halbeisen: Z. Hyg. (im Druck). — [6] Kallós, P., u. L. Kallós-Deffner: Act. med. scand. **116**, 409 (1944). — [7] Herxheimer, H.: Internat. Arch. Allergy a. appl. Immunol. **2**, 27 (1951). — [8] Noelpp, J.: In Resümees der Referate u. Mitteilungen des 1. Int. Allergie-Kongresses, Zürich 1951.

Dr. Hans Friebel, Bonn, Reuterstraße 2b, Pharmakol. Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 35—42 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. Dr. W. Schulemann).

Über die Prüfung von Antihistaminkörpern am tierexperimentellen Asthma.

Von
Hans Friebel.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. Juni 1952.)

Die Wirkungsstärke der Antihistaminkörper wird pharmakologisch vorwiegend mit Hilfe von 2 Testmethoden ermittelt, dem Versuch am isolierten Darm in der Anordnung von Magnus[1] und dem experimentellen Histamin-Bronchospasmus des Meerschweinchens nach Kallós und Pagel[2]. Bei der klinischen Anwendung der Antihistaminkörper ist die spasmolytische Wirkung auf den Darm und die broncholytische Wirkung viel weniger in der Vordergrund getreten, denn die Antihistaminkörper bewährten sich vor allem bei allergischer Rhinitis und Urticaria als zuverlässige Arzneimittel, während die Erfolge bei bronchospastischen Zuständen hinter den Ergebnissen der Suprarenin- oder Theobrominbehandlung zurückblieben.

Zur Erklärung dieser mangelhaften Übereinstimmung wurden viele Gründe angeführt, von denen wir einen für besonders beachtenswert hielten: Das beim Meerschweinchen hervorgerufene Asthma entspreche nicht dem Bronchialasthma des Menschen und reagiere daher andersartig auf das Arzneimittel.

Wir versuchten, experimentell zu prüfen, wie weit diese Anschauung berechtigt ist. Insbesondere wollten wir erfahren, ob prinzipielle Unterschiede im Verhalten der Versuchstiere und im Verhalten asthmatischer Menschen bestehen, und ob aus diesem Grunde ein Übereinstimmen der jeweils gewonnenen Versuchsergebnisse unmöglich ist oder ob man lediglich die Prüftechnik verändern muß, um zu vergleichbaren Ergebnissen zu kommen.

Über ein für Asthmaversuche geeignetes Gerät, in dem sowohl mit Histamin als auch bei sensibilisierten Tieren mit Allergen ein langandauerndes Asthma von gleichbleibender Stärke hervorgerufen werden kann, wurde zusammen mit Basold[3] bereits berichtet. In einer weiteren Arbeit[4] wurde nachgewiesen, daß das Bild des Meerschweinchenasthmas

nach Histamininhalation äußerlich mit dem des allergischen Meerschweinchenasthmas weitgehend übereinstimmt, daß sich aber bei der Analyse der pathophysiologischen Einzelfunktionen bedeutende Unterschiede zwischen beiden Asthmaformen nachweisen lassen.

In dieser Arbeit wird über vergleichende Arzneimittelprüfungen berichtet, die mit unserer Arbeitsweise unter Verwendung von Antihistaminkörpern an beiden tierexperimentellen Asthmaformen durchgeführt wurden.

Bei diesen Versuchen fanden wir die Bestätigung für unsere Annahme, daß die Diskrepanz zwischen den bisherigen am Histaminasthma gewonnenen Prüfungsergebnissen und der klinischen Erfahrung die Folge der mangelhaften Übereinstimmung zwischen dem Histaminasthma und dem allergischen Asthma ist. Sie kann beseitigt werden, indem man die Arzneimittel mit einem geeigneteren Testverfahren untersucht. Aus den Versuchsergebnissen geht weiterhin hervor, welche Bedeutung die Verträglichkeit eines Antihistaminkörpers für seine antiasthmatische Wirkung hat.

Methodik.

Histaminbehandelte Meerschweinchen wurden nach Auftreten des Asthmaanfalls in ein gleichbleibend mittelschweres Asthma eingesteuert und anschließend 10 min lang beobachtet. Blieb das Asthma konstant, so wurde dem asthmaunterhaltenden Wasseraerosol im Austausch gegen ein von vornherein mitlaufendes Wasseraerosol ein arzneimittelhaltiges Aerosol beigemischt. Wir verwandten molare wäßrige Lösungen von Antihistaminkörpern, die das durch m/1000 Histaminbiphosphat-Lösung unterhaltene Asthma beseitigen sollten. Beim Austesten wurde das Arzneimittel, meist von einer m/1000 Lösung ausgehend, fortlaufend auf $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$ usw. der ursprünglichen Konzentration verdünnt, bis einzelne Tiere trotz der Einwirkung des Arzneimittels nicht mehr aus dem Asthma herauskamen. Der Einzelversuch wurde als erfolglos abgebrochen, wenn nach 40 min ununterbrochener Arzneimittelvernebelung kein völliges Schwinden der Asthmasymptome festzustellen war. Als Grenzkonzentration wurde diejenige Arzneimittelverdünnung bezeichnet, bei der von 5 geprüften Meerschweinchen alle Tiere das Asthma verloren. Überdauerten die Asthmasymptome bei nur einem der Tiere, so wurde diese Arzneikonzentration als unwirksam bezeichnet. Antihistaminkörper, die in stärkeren Konzentrationen als m/1000 Lösung verwandt werden mußten, vernebelten wir unter Verdoppelung der Konzentration aus immer stärkeren Lösungen, bis die Grenzkonzentration erreicht war. Die Histamin- und zum Teil auch die Antihistaminkörper-Lösungen erwiesen sich als begrenzt haltbar. Wir haben sie nicht länger als 7 Tage bei Verwahren im Eisschrank verwandt. Die Tiere wurden nicht häufiger als 1 mal wöchentlich in den Versuch genommen.

Beim allergischen Bronchialasthma, das wir mit Eiweiß-Lösungen bei Meerschweinchen erzeugten, die 6 Wochen vor dem 1. Versuch mit Hühnereiweiß sensibilisiert worden waren, haben wir die gleichen Regeln eingehalten. Nur in einer Hinsicht war es notwendig, eine Abweichung vorzunehmen. Es zeigte sich, daß einzelne Tiere selbst auf hohe Antihistamingaben hin ihr Asthma nicht verloren. Aus mehreren hundert Einzelversuchen ergab sich die Erfahrung, daß diese

Reaktionsunfähigkeit bei sensibilisierten Tieren sporadisch auftritt. Üblicherweise sprechen sie ganz normal auf die Arzneimittelgaben an. Nur an einzelnen Tagen und aus unbekannten Gründen erwiesen sich die Antihistaminkörper, aber auch andere Broncholytica, als wirkungslos. Wir haben dieser zunächst nicht erklärbaren Tatsache insofern Rechnung tragen müssen, als wir bei allergischen Tieren eine Antihistaminkonzentration auch dann als voll wirksam bezeichneten, wenn mindestens 4 von 5 Tieren ihr Asthma verloren. Im Zweifelsfalle vergrößerten wir bei der Bestimmung der Grenzkonzentration die Zahl der Versuche von 5 auf 10.

Versuche, bei denen das Arzneimittel injiziert wurde, wurden so durchgeführt, daß nach Abschluß der 10 min dauernden Beobachtung des Asthmas die Arzneimittel den Meerschweinchen unter die Nackenhaut gespritzt wurden. Diese Manipulation bedingte eine ungefähr 30 sec dauernde Unterbrechung der Inhalation des asthmogenen Nebels. Eine Erleichterung des Asthmas trat hierdurch nicht ein.

Ergebnisse.

1. Histaminasthma. Die Antihistaminkörper wurden als Aerosol verabreicht.

Wir prüften vergleichend Allercur (3-p-Chlorbenzyl-2-pyrrolidin-methylen-benzimidazol), Antistin (N-Benzyl-N-phenyl-2-imidazolino-methylamin), Atosil (N-[β-Dimethyl-amino-propyl]-phenothiazin), Avil (3-[Phenyl]-3-[2-pyridyl] dimethyl-amino-propan), Casantin (N-[β-Diaethyl-amino-aethyl-]phenothiazin), Chlortrimeton (3-(p-Monochlorphenyl)-3-(2-pyridyl)dimethyl-aminopropan), Dabylen (Benzhydryl-β-dimethyl-aminoaethyl-äther), als Bestandteil des Priatan (1-Dimethyl-phenyl-imino-thiazolidin), Hibernon (N′-p-Brom-benzyl-N′-[2-pyridyl-]N, N-dimethyl-aethylendiamin), Luvistin (N-Benzyl-N-phenyl-pyrrolidino-aethylamin), Neo-Bridal (N′-p-Methoxybenzyl-N′-[2-pyridyl]-N,N-dimethyl-aethylen-diamin), Pyribenzamin (N′-Benzyl-N′-[2-pyridyl]-N,N-dimethyl-aethylendiamin), Soventol (N-Benzyl-N-phenyl-4-amino-1-methylpiperidin), Synpen (N′-p-Chlor-benzyl-N′-[2-pyridyl-] N,N-dimethyl-aethylendiamin), Thephorin (1-Phenyl-4-methyl-3,4,5,6 tetrahydropyridinden), Trimeton (3-[Phenyl]-3-[2-pyridyl]dimethyl-amino-propan). (Über die Chemie dieser Körper berichtet Haas[5] ausführlich mit Ausnahme von Allercur*.)

Als Beispiel für die Zeit, die bei verschiedenen Konzentrationen des Arzneimittels vergeht, bis der Beginn der antiasthmatischen Wirkung und die volle Wirkung erkennbar werden, haben wir die bei 3-p-Chlorbenzyl-2-pyrrolidin-methylen-benzimidazol und N′-Benzyl-N′-[2-pyridyl]-N,N-dimethyl-aethylendiamin gefundenen Werte aufgeführt. Das Benzimidazol-Derivat wird künftig mit I, das Aethylendiamin-Derivat mit II bezeichnet.

* Hersteller: Schering AG., Berlin.

Tabelle 1.

	Meerschweinchen Nr.	Antihistamin-Konzentration m/1000		m/2000		m/4000		m/8000		m/16000	
	53	1½	9½	2½	40	6	—				
	56	2½	19½	6	14	—					
I	59	1½	6	2	8		–				
	63	5	12	5	14	3½	17				
	64	1½	10	4	40	—	—				
	7	2	4	1	6			2	10	7	
	8	3	7	½	11	3	30	1½	38	7½	40
II	9	1½	5	1½	6½	1½	14	2	22	7	—
	10	1	4	1	6	2	11	1	40	4	—
	11	1½	5	1½	6	1½	6	3	16	25	—

Der erste Wert unter jeder Konzentration gibt die Zeit bis zum Beginn der Wirkung, der zweite Wert bis zur vollen Wirkung in Minuten wieder. Die volle Arzneimittelwirkung wird bei I bis zur Konzentration m/2000 erhalten, bei II bis zur Konzentration m/8000.

Die Abstufung der Grenzkonzentrationen bei den 16 geprüften Antihistaminkörpern geht aus der Abb. 1 hervor.

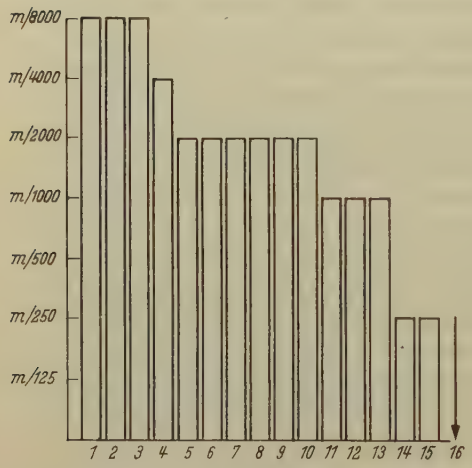


Abb. 1.

1 Pyribenzamin
2 Neo-Bridal
3 Chlortrimeton
4 Hibernon
5 Allercur
6 Avil
7 Atosil
8 Thephorin
9 Soventol
10 Trimeton
11 Dabylen
12 Luvistin
13 Synpen
14 Antistin
15 Casantin
16 1-Dimethyl-phenyl-iminothiazolidin

Die einzelnen Kolumnen geben die Grenzkonzentrationen von molaren Antihistamin-Lösungen an, mit denen man (bei Zuführung als Aersosol) ein Asthma beseitigen kann, das durch m/1000 Histaminphosphat-Lösung unterhalten wird. In der Ordinate die Grenzkonzentrationen in logarithmischer Schreibung. In der Abszisse die Nummern von 16 verschiedenen Antihistaminkörpern.

2. *Histaminasthma.* Die Antihistaminkörper wurden subcutan injiziert.

Wir prüften hier Allercur, Antistin, Atosil, Chlortrimeton, Dabylen, Pyribenzamin, Thephorin, Trimeton. Auch hier wurde die Zeit bis zum Beginn der Arzneiwirkung und bis zur vollen Wirkung registriert. Die Arzneidosierung wird in mg/kg angegeben. Als Beispiel für die

Prüfungsergebnisse, die wir bei den einzelnen Substanzen fanden, werden wieder die Werte von I und II aufgeführt.

Tabelle 2.

	Meerschweinchen Nr.	Antihistamin-Dosierung 2 mg/kg		0,8 mg/kg		0,5 mg/kg		0,4 mg/kg		0,2 mg/kg	
				min	min			min	min		
	4, 166			2	10			3	—		
	11, 138			4	13			3½	23		
I	15, 135			3½	14			1½	30		
	63, 137			1	5			3	15		
	165, 140			5	12			4	—		
	20,	sec	min			sec	min	sec	min	min	min
	139, 163	45	8					60	10	3	—
	18,										
	164, 140	90	6			100	4	60	4	1½	7½
II	63,										
	165, 159	40	6			70	7	60	11	1	15
	132, 161,										
	160, 166	40	7			50	4	30	3½	1	—
	120, 160,										
	161, 169	30	2			100	2	60	6	1½	—

Erläuterungen wie Tab. 1. Zeit bis zum Wirkungseintritt zum Teil in Sekunden. Volle Arzneiwirkung bei I bis zu 0,8 mg/kg, bei II bis zu 0,4 mg/kg.

Die Kolumnen geben ähnlich wie in Abb. 1 die kleinsten voll wirksamen Antihistamindosen zur Beseitigung des Histaminasthmas an. Die Arzneimittelzuführung erfolgte durch subcutane Injektion. Numerierung der Antihistaminkörper wie in Abb. 1.

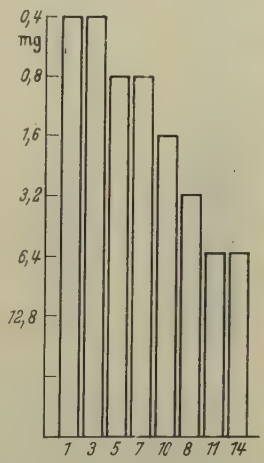


Abb. 2.

3. Allergisches Asthma. Die Antihistaminkörper wurden inhaliert.

Geprüft wurden Allercur, Dabylen und Pyribenzamin. Auf eine Darstellung der Ergebnisse in Tabellenform wurde verzichtet, da die Versuche im Prinzip nicht anders verlaufen sind als beim Histaminasthma. Die Grenzkonzentration für I liegt bei m/500, für II bei m/750.

4. Allergisches Asthma. Die Antihistaminkörper wurden subcutan injiziert.

Die Prüfungsergebnisse von I und II werden in Tab. 3 wiedergegeben. Von I ließ sich die noch vollwirksame Dosis feststellen, da sie ohne toxische Erscheinung vertragen wurde. Bei II traten bereits Vergiftungserscheinungen auf, ehe die vollwirksame Arzneimitteldosis erreicht worden war. Soweit sich eine beginnende Arzneiwirkung erkennen ließ, wurde sie in Tab. 3 eingetragen.

Tabelle 3.

Meerschweinchen Nr.		Antihistamin-Dosierung 6,4 mg/kg		3,2 mg/kg		1,6 mg/kg	
I	60, 155	20 sec	8 min	1½ min	20 min		
	87, 149	30 sec	11 min	—	—		
	104, 150	30 sec	8 min	1½ min	—		
	107	30 sec	12 min				
	110	3 min	25 min				
II	149, 102			nach 8 min		40 sec	5 min
	148, 109			nach 5 min		—	—
	153			wegen Vergiftungs-		30 sec	15 min
	151			erscheinungen		—	—
				abgebrochen			

Erläuterungen wie Tab. 1. Zeit bis zum Wirkungseintritt zum Teil in Sekunden. Volle Arzneiwirkung bei I bis zu 6,4 mg/kg, bei II wegen Vergiftungserscheinungen nicht feststellbar.

Die bei allergischen Meerschweinchen ermittelten Werte sind in Abb. 3 so dargestellt, daß die beim Histaminasthma gefundenen Grenzwerte mit den beim allergischen Asthma notwendigen Normaldosen verglichen werden können.

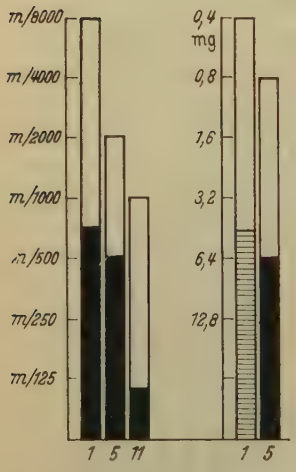


Abb. 3. In den linken drei Kolumnen sind die Grenzkonzentrationen der bei der Aerosolbehandlung des Histaminasthmas benötigten Antihistamin-Lösungen als farbloser Block angegeben. Numerierung der Antihistaminkörper wie in Abb. 1. Die Grenzkonzentrationen für das allergische Asthma sind in den gleichen Kolumnen schwarz gezeichnet. In den rechten beiden Kolumnen sind die bei der subcutanen Injektion benötigten kleinsten Histaminmengen angegeben. Für das Histaminasthma gilt auch hier der farblose Block, für das allergische Asthma der schwarze bzw. gestrichelte Block. Die Strichelung zeigt die vermutlich kleinste vollwirksame Dosis von I an, die aber keinen therapeutischen Wert hat, da sie Vergiftungserscheinungen auslöst.

Besprechung der Ergebnisse.

Vergleicht man die Arzneimittelmengen, die erforderlich sind, um das Histaminasthma zu beseitigen, mit denen, die das allergische Asthma unterdrücken, so ergibt sich, daß ein Mehrfaches der beim Histaminasthma erforderlichen Dosis für das allergische Asthma benötigt wird. Beim 3-p-Chlorbenzyl-2-pyrrolidin-methylen-benzimidazol mußte die Dosis auf das Vierfache, beim N′-Benzyl-N′-(2-pyridyl)-N,N-dimethyl-aethylendiamin auf das Zehnfache erhöht werden, wenn die Arzneimittel als Aerosol zugeführt wurden. Bei subcutaner Injektion wurde vom Benzimidazolderivat die achtfache Menge gebraucht. Hierbei kam es nicht zu

Vergiftungserscheinungen. Beim Aethylendiamin-Derivat traten schon nach der vierfachen Dosis Nebenwirkungen auf, während das Asthma nur bei einem Teil der Versuchstiere beseitigt wurde. Die Prüfung der antiasthmatischen Wirkung nach der Injektion der achtfachen Menge war nicht möglich, weil die heftigen Vergiftungserscheinungen alle weiteren Reaktionen überdeckten. Entsprechende Verhältnisse sind beim Menschen nachgewiesen worden. SCHILLER und LOWELL[6] erzeugten beim Menschen mit Histamin und Pollenaerosol Asthmaanfälle und prüften bei beiden Asthmaformen Pyribenzamin. Das Histaminasthma ließ sich mit Pyribenzamin verhüten, das Heuasthma nicht.

Wie schon eingangs gesagt, bestand bisher ein nicht zu erklärender Unterschied zwischen den Ergebnissen der pharmakologischen Prüfung von Antihistaminkörpern am Histaminasthma des Meerschweinchens einerseits und den klinisch therapeutischen Erfahrungen am Asthmatiker andererseits.

Unsere Versuche zeigen, daß auch am Tier ein prinzipieller Unterschied zwischen Histaminasthma und allergischem Asthma besteht, Berücksichtigt man diese Tatsache, so gelingt es auch im Testversuch. Prüfungsergebnisse zu erzielen, die mit den klinischen Erfahrungen übereinstimmen. Es ist dazu notwendig, die Wirkung von Antihistaminkörpern vergleichend am Histamin- und allergischen Asthma zu prüfen.

Eine erfolgreiche innerliche Behandlung des allergischen Bronchialasthmas beim Tier wie beim Menschen läßt sich mit Antihistaminkörpern in der Regel nicht durchführen, weil die erforderlichen hohen Arzneimitteldosen nicht vertragen werden. Nach der subcutanen Injektion gelangt der Antihistaminkörper so stark verdünnt an den Ort der Antigen-Antikörper-Reaktion in den Lungen, daß sehr hoch dosiert werden muß. Die toxischen Nebenwirkungen treten zum Teil schon auf, ehe das Asthma günstig beeinflußt wird. Bei der Inhalation von Antihistaminkörpern kommen kleine Mengen in verhältnismäßig hoher Konzentration unmittelbar am Ort der Antigen-Antikörper-Reaktion zur Wirkung. Toxische Nebenwirkungen treten nicht auf. Will man also allergisches Asthma mit Antihistaminkörpern behandeln, sollte man der Inhalationsbehandlung den Vorzug geben.

Für die Verwendbarkeit eines Antihistaminkörpers in der Asthmatherapie ist, wie wir am Beispiel des Aethylendiamin-Derivats und des Benzimidazol-Derivats gezeigt haben, die Verträglichkeit der Substanz von ausschlaggebender Bedeutung. Das erste ist einer der kräftigsten Antihistaminkörper, das zweite hat eine etwas schwächere spezifische Wirkung. Dennoch läßt sich 3-p-Chlorbenzyl-2-pyrrolidin-methylenbenzimidazol bei subcutaner Anwendung in hoher Dosierung mit Erfolg als sicher wirkendes Asthmamittel verwenden. Das Äthylendiamin-Derviat muß, bevor eine asthmabeseitigende Dosierung erreicht ist,

wegen seiner Nebenwirkungen abgesetzt werden. Bei schwer zu beeinflussenden Krankheitszuständen geben im Rahmen der hier behandelten Größenordnungen der therapeutische Index und die Verträglichkeit den Ausschlag für die Steigerungsmöglichkeit der Dosierung und für das Erreichen der größtmöglichen Antihistaminwirkung. Sie bestimmen in erster Linie die therapeutische Brauchbarkeit.

Die Erörterung der interessanten Frage nach dem Ausmaß der Histaminbeteiligung am allergischen Krankheitssyndrom, zu der unsere Ergebnisse anregen, soll einer weiteren Arbeit überlassen bleiben, in der Versuche mit anderen broncholytischen Arzneimitteln mit herangezogen werden. Die beim Histaminasthma deutlich werdenden engen Beziehungen zwischen der Histamin- und Antihistaminwirkung dürfen sicherlich nicht uneingeschränkt auf das allergische Asthma übertragen werden.

Zusammenfassung.

1. Die Ergebnisse der tierexperimentellen Prüfung von Antihistaminkörpern am Meerschweinchenasthma stimmen weitgehend mit den klinischen Erfahrungen bei Asthmatikern überein, wenn die pharmakologische Testung am allergischen Bronchialasthma sensibilisierter Meerschweinchen nach der von Friebel und Basold angegebenen Prüftechnik durchgeführt wird.

2. 16 verschiedene Antihistaminkörper wurden am Histaminasthma, 3 am allergischen Asthma des Merrschweinchens vergleichend geprüft. Zur Beseitigung des laufend unterhaltenen Asthmas wurde bei der Verwendung von Allergenen als asthmogenen Mitteln das Vier- bis Zehnfache der beim Histaminasthma wirksamen Dosis benötigt. Die beim Histaminasthma bestehenden Beziehungen zwischen der Histamin- und Antihistaminwirkung lassen sich nicht uneingeschränkt auf das allergische Asthma übertragen.

3. Die Wirkung des N′-Benzyl-N′-(2-pyridyl)-N,N-dimethyl-aethylendiamins und des 3-p-Chlorbenzyl-2-pyrrolidin-methylenbenzimidazols auf das allergische Asthma wird miteinander verglichen. Das Aethylendiamin-Derivat hat stärkere Antihistamineigenschaften, das Derivat des Benzimidazols (Allercur) ist besser verträglich. Im Therapieversuch erwies sich die bessere Verträglichkeit als entscheidender Faktor für die Brauchbarkeit des Antihistaminkörpers.

Literatur.

[1] Magnus, R.: Pflügers Arch. **102**, 123 (1904). — [2] Kallós, P., u. W. Pagel: Acta med. scand. (Stockh.) **41/III**, 292 (1937). — [3] Friebel, H., u. A. Basold: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — [4] Friebel, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — [5] Haas, H.: Histamin und Antihistamin. Aulendorf: Cantor 1951. — [6] Schiller and Lowell: New England J. Med. **240**, 215 (1949).

Dr. Hans Friebel, Bonn, Reuterstraße 2b, Pharmakologisches Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 43—56 (1953).

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. L. Heilmeyer) und der Abteilung für experimentelle Therapie der Universität Freiburg (Leiter: Dozent Dr. P. Marquardt).

Untersuchungen über die Leberlymphe.

I. Mitteilung.

Eiweißgehalt und Verteilung der Fraktionen in Blut und Leberlymphe normaler Hunde und Katzen und tetrachlorkohlenstoffvergifteter Hunde.

von

Hans Adolf Kühn und Gerhard Hildebrand.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Juni 1952.)

Seit den Untersuchungen Eppingers und Rössles mit ihren Schülern über die seröse Entzündung wird den Störungen der intrahepatischen Capillarpermeabilität (seröse Hepatitis) große Bedeutung für die Pathogenese der Leberkrankheiten beigemessen.

Eppinger hat den *Icterus catarrhalis* auf eine seröse Hepatitis zurückgeführt, die durch Intoxikation mit Eiweißabbauprodukten aus der Nahrung verursacht würde. Als Modellversuch diente ihm die experimentelle Allylformiatvergiftung des Hundes (Eppinger, Kaunitz und Popper). Rössle hat für die Entstehung mancher Formen von *Lebercirrhose* eine pathologische Steigerung der Permeabilität der Lebercapillaren verantwortlich gemacht, Siegmund, Axenfeldt u. Brass, Beiglböck, Holler u. a. haben die Bedeutung des gleichen Vorganges für die Pathogenese der *Hepatitis epidemica* hervorgehoben, Zink und Günther endlich für die Entwicklung der Leberveränderungen bei *Verbrennungen* und *Diphtherie*.

Alle diese Theorien gehen von der Voraussetzung aus, daß die Lebercapillaren sich in funktioneller Hinsicht wie die Capillaren anderer Körpergebiete verhalten, d. h. daß sie normalerweise für die Plasmaeiweißkörper undurchlässig sind. So schreibt Eppinger 1949:

„Hier (in den Lebercapillaren) dürfte ebenso eine Ultrafiltration erfolgen wie an anderen Stellen unseres Körpers, so zwar, daß Blutwasser in Dissesche Räume eindringt und sich auf diese Weise den Parenchymzellen nähert, das setzt allerdings voraus, daß die Membran, welche das Pfortaderblut von den Leberzellen trennt, semipermeablen Charakter haben muß."

Gegen diese Auffassung lassen sich mancherlei Einwände erheben. So hat Starling schon 1894 gefunden, daß die Leberlymphe praktisch die gleiche Eiweißkonzentration aufweist wie das Blut. Weiterhin haben Bayliss und Starling beobachtet, daß bei Kompression der Vena cava oberhalb der Einmündung der Lebervenen der Lymphfluß aus dem Ductus thoracicus erheblich ansteigt (vgl. neuerdings auch Volwiler), ohne daß der Eiweißgehalt der Lymphe abnimmt, was nur möglich ist,

wenn in einem der Quellgebiete des Ductus die Capillaren für Eiweiß durchlässig sind. Starling schloß aus diesen Beobachtungen, daß die Lebercapillaren schon unter normalen Verhältnissen eine so hohe Permeabilität besitzen, wie sie in anderen Körpergebieten nur im Verlauf von Entzündungen beobachtet wird. Auch Krogh hat die Ansicht vertreten, daß die Lebercapillaren normalerweise für die Plasmaeiweißkörper durchlässig seien; später hat sich noch eine Reihe weiterer namhafter Forscher dieser Meinung angeschlossen (Drinker und Field, With, Brinkhous und Walker, MacCarrel und Mitarbeiter, Knisely).

Dieser Deutung kann nun allerdings entgegengehalten werden, daß der Eiweißgehalt der Lymphe nicht unbedingt als Maßstab für die Permeabilität der Capillaren gelten kann. Denn „Gewebsflüssigkeit" und Lymphe sind keineswegs immer dasselbe. Nach Eppinger (1949) ist die Aufgabe des Lymphsystems neben der Drainage gerade die „Reinigung" des Gewebes von hochmolekularen Substanzen, die entweder den Zellen selbst entstammen oder auf Grund von Störungen der Capillarpermeabilität in das Gewebe ausgetreten sind. Für die *Leber* ergibt sich überdies die Frage, ob nicht der hohe Eiweißgehalt ihrer Lymphe Ausdruck der Beteiligung des Organes am Eiweißstoffwechsel, insbesondere an der Synthese und Regulation der Plasmaeiweißkörper ist (Wuhrmann und Wunderly), d. h. ob nicht das in der Leberlymphe vorhandene Eiweiß in den Leberzellen *neu*-gebildet und auf dem Wege über die Disseschen Spalträume in das Lymphsystem der Leber gelangt ist (vgl. Cain und Mitarbeiter).

Um diese für unsere Vorstellungen über Physiologie und Pathologie der Leber wichtigen Fragen zu klären, schienen uns erneute Untersuchungen der Leberlymphe notwendig. Wir haben dabei drei verschiedene Versuchsreihen durchgeführt.

In der ersten wurden der Eiweißgehalt der Leberlymphe bei normalen Versuchstieren (Hunden und Katzen) und die Verteilung der einzelnen Fraktionen bestimmt und die Werte mit den im Blut gefundenen verglichen.

In der zweiten wurden die gleichen Untersuchungen nach schweren Schädigungen des Leberparenchyms (Tetrachlorkohlenstoffvergiftung) durchgeführt.

In der dritten wurde der Übertritt hochmolekularer Substanzen aus dem Blut in die Leberlymphe geprüft.

Diese erste Mitteilung umfaßt die Ergebnisse der beiden ersten Versuchsreihen.

Ältere Untersuchungen.

Außer den erwähnten Untersuchungen von Starling sowie Bayliss u. Starling am Hund liegen Untersuchungen über den Eiweißgehalt der Leberlymphe von Field u. Mitarb. vor, die 70—90% der Bluteiweißkonzentration fanden,

ferner von Smith (85%), neuerdings von Brinkhous u. Walker (bis 85%), Cain u. Mitarb. (bis 85%) und MacCarrel u. Mitarb. (bis 100%). Über den Eiweißgehalt der Ductus thoracicus-Lymphe gibt es zahlreiche Untersuchungen, auf deren Aufzählung hier verzichtet sei. Durchschnittlich wurden 50% der Bluteiweißkonzentration gefunden (nähere Angaben bei Eppinger; Eppinger, Kaunitz u. Popper; Field u. Mitarb.).

Die Gewinnung von Leberlymphe bietet gewisse technische Schwierigkeiten. Bei den älteren Arbeiten wurde meistens aus den neben der Pfortader verlaufenden Leberlymphgefäßen mit feiner Kanüle Lymphe abgesaugt (z. B. Funaoka, Sumiya). Neuerdings haben Cain und Mitarbeiter ein Verfahren ausgearbeitet, das eine Ableitung der Leberlymphe mit Kathetern aus Polyvinyl-Kunststoff aus den extrahepatischen Leberlymphgefäßen gestattet. Auf diese von uns angewandte Technik wird im folgenden Abschnitt eingegangen.

Eigene Untersuchungen.

I. Material und Technik.

Unsere Untersuchungen wurden an Hunden und Katzen durchgeführt. Bei Hunden wurde die intramuskuläre Morphin-Pernocton-Narkose nach Rein, bei Katzen die intravenöse Pernocton-Narkose verwandt[1]. Beim Aufsuchen der Leberlymphgefäße hielten wir uns an die von Cain u. Mitarb. gemachten Angaben: Nach Eröffnung der Bauchhöhle werden die Darmschlingen nach unten abgedrängt und die Duodenalschleife nach links herübergeschlagen, so daß die untere Hohlvene freiliegt. Unmittelbar neben ihr findet sich unterhalb der Leberpforte ein etwa erbsengroßer Lymphknoten, in den die von der Leberpforte entlang der Pfortader herabziehenden Leberlymphgefäße einmünden. Zum Einführen eines Katheters sind die oberhalb des Lymphknotens verlaufenden Lymphgefäße infolge ihres geringen Kalibers im allgemeinen nicht geeignet, doch gelingt es unter Umständen, eine ganz feine Glaspipette in ihre Lichtung einzuführen und Lymphe abzusaugen. Wesentlich günstiger ist es, den abführenden Leberlymphstamm unmittelbar unterhalb des Lymphknotens aufzusuchen, wo er sich nach dorsal hinter die Hohlvene wendet. Um dieses im gefüllten Zustand bis stricknadeldicke Lymphgefäß aufzufinden, war es in den meisten Fällen erforderlich, die Hohlvene vorsichtig abzupräparieren. Das Lymphgefäß wurde dann stumpf freigelegt, wobei jede Verletzung peinlichst vermieden werden mußte, da es außerordentlich schwierig ist, ein leergelaufenes und kollabiertes Gefäß wieder aufzufinden. Das freiliegende Gefäß wird mit einer feinen Schere eröffnet, die Wand mit stumpfer Pinzette oder einem kleinen Haken angehoben, der schräg zugeschnittene Katheter in die Lichtung eingeführt und so weit wie möglich vorgeschoben. Durch zwei vorgelegte Ligaturen wird der Katheter im Lymphgefäß fixiert und das andere Ende durch eine kleine Öffnung in der seitlichen Bauchwand nach außen geführt.

Die *Katze* bietet für die Gewinnung von Leberlymphe den Vorteil der breiteren unteren Thoraxapertur, wodurch die Leberpforte erheblich leichter zugängig wird als beim Hund. Diese besseren anatomischen Verhältnisse wiegen den Nachteil des etwas kleineren Kalibers der Lymphgefäße auf, zumal die Unterschiede nicht erheblich sind, besonders wenn man eine kurz dauernde Lymphstauung durch

[1] Zur Frage einer möglichen Beeinflussung der Ergebnisse durch die Narkose vgl. S. 50.

Druck auf das Gefäß hervorruft. Bei der Katze gelingt es nach einiger Übung leicht, Leber- und Darmlymphgefäße getrennt zu katheterisieren.

Die Katheter bestanden aus Polyvinyl-Kunststoff, besaßen eine lichte Weite von 0,5—1,5 mm, waren sehr biegsam und glattwandig, so daß die Gerinnung weitgehend verhindert wurde. Wir haben bis zu 16 Std lang einen kontinuierlichen Lymphfluß aus einer solchen Fistel erhalten, ohne daß eine Durchspülung des Katheters notwendig wurde.

Nach Anlegung der Lymphfistel wurde die Bauchhöhle provisorisch geschlossen. Auf diese Weise wurde bei 12 Hunden und 9 Katzen Leberlymphe gewonnen. Bei weiteren 4 Hunden gelang es nicht, ausreichende Lymphmengen zu erhalten, da die Leberlymphgefäße wegen ihres atypischen Verlaufes nicht aufzufinden waren oder der Lymphfluß zu gering war. Bei 2 Katzen konnte auch oberhalb der portalen Lymphknotengruppe unmittelbar aus den auf der Pfortader verlaufenden Leberlymphgefäßen Lymphe abgeleitet werden, bei einigen Katzen wurde gleichzeitig Darmlymphe durch Drainage eines größeren Darmlymphgefäßes im Mesenterium gewonnen.

Die Lymphe wurde in kleinen Gläschen aufgefangen und die Gerinnung abgewartet. Danach wurde scharf zentrifugiert und das Lymphserum abgegossen. Zur Gewinnung von Lymphplasma ließen wir in ein graduiertes Röhrchen, das 0,1 cm³ 1,34%ige Oxalat-Lösung enthielt, 0,9 cm³ Lymphe zutropfen.

Folgende Bestimmungen wurden durchgeführt:

1. Gesamteiweiß nach Kjeldahl. Dabei ist für den Rest-N ein etwas höherer Wert anzusetzen als im Blutserum, da der Rest-N der Leberlymphe etwas höher ist als im Blut. Nach Funaoka beträgt er bei Kaninchen im Durchschnitt 44 mg%. Wir fanden bei einer Katze folgende Werte:

	Blutserum (untere Hohlvene)	Blutserum (Pfortader)	Leberlymphserum
Gesamteiweiß	5,5 g%	5,3 g%	4,8 g%
Rest-N	39,3 mg%	39,3 mg%	44,8 mg%

Da wir den Rest-N nicht in allen Fällen mitbestimmen konnten, wurde in jedem Falle eine Vergleichsbestimmung mit der Kupfersulfat-Methode von Philipps, van Slyke u. Mitarb. durchgeführt. Wenn diese Methode auch keinen Anspruch auf absolute Genauigkeit erheben kann, so ist sie doch nach unseren Erfahrungen für Vergleichsbestimmungen ganz gut brauchbar. Entsprechend den Untersuchungen von Reiser zeigte sich eine ausreichende Übereinstimmung mit den nach Kjeldahl ermittelten Werten.

2. Eiweißfraktionen. Mit der Elektrophorese-Apparatur nach Tiselius (Optik nach Philpot-Svensson, Veronalpuffer p_H 8,0[1]).

3. Prothrombin, mit der Einphasen-Methode von Quick[1].

4. Fibrinogen, nach der Methode von Baumann bzw. elektrophoretisch (konnte aus technischen Gründen leider nur bei 2 Tieren bestimmt werden).

Im Blut (Vena femoralis) wurden in jedem Falle die gleichen Bestimmungen durchgeführt. Um die bei der Gerinnung von Hundeblut sehr leicht eintretende Hämolyse zu vermeiden, die sich auch bei unseren ersten orientierendenVersuchen

[1] Für die Prothrombin-Bestimmungen sind wir Frl. Dr. Rang zu großem Dank verpflichtet, für die Anfertigung und Auswertung der Elektrophoresediagramme Herrn Dr. Kilchling.

sehr störend bemerkbar machte, haben wir bei den späteren Experimenten mit Hunden ausschließlich Oxalatplasma verwandt, wodurch die Hämolyse praktisch ausgeschaltet wurde.

Die Lebern aller Versuchstiere wurden histologisch untersucht[1]. Um Fehldeutungen durch agonale Veränderungen zu vermeiden, wurde die Bauchhöhle nach Beendigung des Versuches wieder eröffnet, und ein Leberstückchen zur histologischen Untersuchung entnommen. Danach erst wurde das Tier getötet. Bei der anschließenden Sektion wurde auf die einwandfreie Lage des Katheters besonders geachtet.

II. Ergebnisse.

Versuchsreihe I (Normaltiere).

Genaue Angaben über die *Gesamtmenge* der in der Zeiteinheit abfließenden Leberlymphe können wir nicht machen, da wir nicht in allen Fällen die neben dem drainierten Hauptlymphstamm verlaufenden Nebengefäße unterbunden haben. Bei 2 Hunden erhielten wir 5 cm³ in

Tabelle 1. *Eiweißkonzentration und Verteilung der Fraktionen in Blut- und Leberlymphserum (bzw. Plasma) bei Hunden.*

Hund Nr.		Ges.-Eiweiß g/100 cm³	% d. Bluteiweißkonzentr.	Verteilung der Fraktionen in %					Albumin/Globulin-Quotient	Prothrombin % des Normalwertes	Fibrinogen g/100 cm³
				Alb.	α_1	α_2	β	γ			
1	Bl.	6,6									
	Ly.	—									
3	Bl.	6,0	70,0								
	Ly.	4,1									
4	Bl.	6,0	70,0								
	Ly.	4,1									
5	Bl.	6,5	72,3	41,1	8,3	15,5	16,6	18,5	0,7		
	Ly.	4,7		61,0	7,0	10,0	7,0	15,0	1,55		
6	Bl.	5,8	—	38,0	5,2	12,3	20,5	24,0	0,61		
	Ly.	—		—	—	—	—	—	—		
10	Bl.	6,0	75,0	51,0	3,4	12,4	15,2	18,0	1,04		
	Ly.	4,5		68,0	5,0	12,0	8,0	7,0	2,1		
14[2]	Bl.	5,4	72,7	26,0	14,5		22,5	37,0	0,35	130	0,19
	Ly.	3,9		45,0	4,0	4,0	24,0	23,0	0,82	101 (77%)	0,11
15	Bl.	4,1	61,0	51,0	12,0		16,0	17,0	1,04	118	0,17
	Ly.	2,5		—	—		—	—	—	91 (77%)	—
17	Bl.	5,4	83,3	66,0	12,0		22,0		1,9		
	Ly.	4,5		66,0	12,0		14,0	8,0	1,9		
18	Bl.	6,9		43,5	6,5	9,0	41,0		0,77		
	Ly.	—									

[1] Die histologischen Untersuchungen wurden am Pathologischen Institut der Universität Freiburg (Dir. Prof. Dr. F. Büchner) von Herrn Dozent Dr. Altmann durchgeführt. Eine ausführliche Veröffentlichung dieser Befunde erfolgt zusammen mit Altmann an anderer Stelle.

[2] Krankes Tier.

10 min, bei anderen Tieren war der Lymphfluß geringer. Cain und Mitarbeiter geben als Mittel aus einer größeren Zahl von Versuchen eine durchschnittliche Lymphmenge von 2,26 cm^3 in 10 min an (Maximum 5,8, Minimum 0,5 cm^3/10 min.) Das entspricht ungefähr auch unseren Erfahrungen. Bei Katzen erhielten wir durchschnittlich 1,5 cm^3 in 1 Std.

Die für Gesamteiweiß und Eiweißfraktionen in Blut und Leberlymphe bei Hunden und Katzen gefundenen Werte sind in den Tab. 1, 2 und 3 zusammengestellt.

Tabelle 2. *Eiweißkonzentration in Blut-, Leberlymph- und Darmlymphserum bei Katzen.*

Katze Nr.	Gesamteiweiß g/100 cm^3	% der Bluteiweiß-konzentration	Bemerkungen
	Blut —	—	
1	Leberly. 4,8	—	
	Darmly. 4,0	—	
	Blut 4,5	—	
2	Leberly. 4,02	83,3	
	Darmly. 3,44	71,6	
	Blut 6,4	—	
3	Leberly. 6,0	93,5	
	Darmly. 5,0	78,1	
	Blut 4,6	—	Lymphe aus Lymphgefäßen auf der
6	Leberly. 4,5	97,8	Pfortader *oberhalb* der portalen Lymph-
	Darmly. —	—	knoten
	Blut 5,3	—	
9	Leberly. 4,8	90,5	
	Darmly. —	—	

Tabelle 3. *Gesamteiweiß, Albumin- und Globulinkonzentration in Blut- und Leberlymphserum (bzw. Plasma) bei Hunden.*

Hund Nr.		Gesamteiweiß g/100 cm^3	Albumin g/100 cm^3	Globulin g/100 cm^3
5	Blut	6,5	2,67	3,8
	Lymphe	4,7	2,67	1,83
10	Blut	6,0	3,06	2,94
	Lymphe	4,5	3,06	1,44
14	Blut	5,4	1,40	4,0
	Lymphe	3,9	1,76	2,14
17	Blut	5,4	3,56	1,84
	Lymphe	4,5	2,97	1,53

Versuchsreihe II (Tetrachlorkohlenstoffvergiftung).

In der zweiten Versuchsreihe wurden 4 Hunde mit der Schlundsonde mit Tetrachlorkohlenstoff vergiftet; 2—4 Tage später wurde eine Leberlymphfistel in der beschriebenen Weise angelegt. Einem fünften

Hund wurde nach Anlegung der Leberlymphfistel Tetrachlorkohlenstoff unmittelbar in die Pfortader injiziert. Eine Übersicht des Versuchsgutes und der Ergebnisse findet sich in den Tab. 4 und 5.

Tabelle 4. *Tetrachlorkohlenstoffvergiftung bei Hunden* (Übersicht des Versuchsgutes).

Hund Nr.	Giftmenge und Applikationsform	Anlegung der Lymphfistel nach Stunden bzw. Tagen
6	1,5 cm³ in die Pfortader	3 Std
7	2 cm³/kg Körpergewicht mit der Schlundsonde . .	2 Tage
9	1 mal 1 cm³/kg Körpergewicht mit der Schlundsonde	2 Tage
12	1 mal 2,5 cm³/kg Körpergewicht mit der Schlunds.	4 Tage
16	3 mal 2 cm³/kg Körpergewicht mit je 1 Tag Zwischenraum mit der Schlundsonde	1 Tag nach der letzten Vergiftung

Tabelle 5. *Gesamteiweiß, elektrophoretisch ermittelte Fraktionen und Prothrombinkonzentration im Blut- und Leberlymphserum tetrachlorkohlenstoffvergifteter Hunde.*

Hund Nr.	Ges.-Eiweiß g/100 cm³	Verteilung der Fraktionen in % Alb.	α_1	α_2	β	γ	A/Gl. Quotient	Lympheiweiß (% d. Eiw.-Konz. im Blutplasma)
6	Bl. 5,8	—	—	—	—	—	—	—
	Ly. —	stark blutig					—	—
7	Bl. 6,6	Elektrophoresediagr. nicht verwertbar						77
	Ly. 4,9							
9	Bl. 6,4	41	8	12	16	23	0,61	87,5
	Ly. 5,6	41	9	13	15	22	0,61	
12	Bl. 5,7	55	13		15	17	1,2	68,4
	Ly. 3,9	56	10		8	26	1,3	
16	Bl. 7,5	59	13		11	17	1,4	85,3
	Ly. 6,4	65	15		11	9	1,9	

Prothrombin bei Hund Nr. 12 im Blut 135%, in der Leberlymphe 79%, das sind 60% der im Blut gemessenen Konzentration.

Prothrombin bei Hund Nr. 16 im Blut 120%, in der Leberlymphe 113%, das sind 90% der im Blut gemessenen Konzentration.

III. Besprechung der Ergebnisse.

Unsere Untersuchungen zeigen, daß die Leberlymphe sich durch einen sehr hohen Eiweißgehalt auszeichnet, der höher ist als der der Lymphe aus allen anderen bislang untersuchten Körpergebieten. Damit erfahren die Angaben von Starling, Field, Drinker und Mitarbeiter, MacGarrel und Mitarbeiter, Cain und Mitarbeiter erneut eine Bestätigung. Entsprechend den Beobachtungen von Wells an der Darmlymphe war auch bei unseren Versuchen eine gewisse Abhängigkeit der

Eiweißkonzentration der Leberlymphe von der des Blutes festzustellen: je höher die Eiweißkonzentration im Blutserum (oder Plasma), desto mehr Eiweiß enthielt im allgemeinen auch die Leberlymphe. Die von uns in der Lymphe gefundenen Eiweißmengen beim Hund liegen mit 70—80% der Bluteiweißkonzentration etwas tiefer als die von der Mehrzahl der genannten Autoren mitgeteilten Werte. Wir möchten das damit erklären, daß bei einigen Versuchen — zumindest bei den Tieren mit den tiefsten Eiweißwerten (z. B. Hund Nr. 15) — etwas Darmlymphe der Leberlymphe oberhalb der Entnahmestelle zugeflossen war, wenngleich wir sonst bestrebt waren, solche Beimengungen durch Massenligaturen parallel zu dem katheterisierten Lymphgefäß zu verhindern. In dieser Annahme werden wir durch die Tatsache bestärkt, daß wir wesentlich höhere Eiweißwerte in der Leberlymphe bei *Katzen* erhalten haben, bei denen die extrahepatischen Leberlymphgefäße besonders leicht zu präparieren sind, und den höchsten Wert (97,8% der Bluteiweißkonzentration) bei einer Katze, bei der die Lymphe unmittelbar an der Leberpforte aus den auf der Pfortader verlaufenden Lymphgefäßen abgeleitet worden war. Aber auch die bei Hunden gefundenen Werte liegen noch erheblich über der Eiweißkonzentration der Ductus-thoracicus-Lymphe, in der nach den übereinstimmenden Angaben des Schrifttums durchschnittlich 50% der Bluteiweißkonzentration gefunden werden [die Extremitätenlymphe enthält nur etwa 10% der Bluteiweißkonzentration (White, Field und Drinker. Drinker und Yoffey)].

Wir waren bei unseren Versuchen gezwungen, uns auf kurzfristige Experimente am narkotisierten Tier zu beschränken. Es könnte unseren Ergebnissen somit entgegengehalten werden, daß sie nicht unter physiologischen Bedingungen gewonnen wurden, daß es sich somit nicht um „normale" Leberlymphe gehandelt habe. Auch wir haben uns diesen Einwand gemacht, zumal Eppinger und seine Schüler (Popper u. Gerzner) auf die permeabilitätssteigernde Wirkung der Narkose ausdrücklich hingewiesen haben. Eine Durchsicht der Literatur zeigt jedoch, daß die aus verschiedenen Gebieten des Körpers (z. B. Extremitäten und Ductus thoracicus) gewonnenen Lymphproben auch bei vollnarkotisierten Tieren erhebliche Unterschiede ihres Eiweißgehaltes aufweisen. Man müßte also eine besondere Empfindlichkeit der Lebercapillaren gegenüber dem Narkoticum annehmen. Gegen diese Annahme sprechen aber die Untersuchungen von Arnold u. Mendel, die während 18stündiger Amytalnarkose beim Hund keine Veränderungen der chemischen Zusammensetzung der Ductus-thoracicus-Lymphe, auch nicht ihres Eiweißgehaltes, feststellen konnten. Nach Körner zeigt sich die schädigende Wirkung der Barbiturate (bei erheblich höherer Dosierung als der von uns angewandten) vornehmlich in degenerativen Veränderungen der Leberepithelien, während eine capillartoxische Wirkung aus dem histologischen Bild nicht abzuleiten ist. Eine solche ist nach den Untersuchungen von Popper u. Gerzner aber für Äther, Chloroform und Urethan anzunehmen. Im übrigen unterscheidet sich der Eiweißgehalt der Ductus-thoracicus-Lymphe nach Operation in Lokalanästhesie nicht wesentlich von dem narkotisierter Tiere (vgl. Petersen u. Mitarb.). Schließlich haben die Untersuchungen von Cain u. Mitarb. gezeigt, daß die Leber-

SEP 29 1953 BOSTON

lymphe auch nach dem Abklingen der Narkose, 55 Std nach Anlegung der Leberlymphfistel, ihren hohen Eiweißgehalt beibehält. Auch wir haben keinen wesentlichen Unterschied zwischen dem Eiweißgehalt der unmittelbar nach Anlegung der Lymphfistel und der am Ende des Versuches entnommenen Lymphprobe feststellen können, auch nicht bei Tieren, die offensichtlich unter der Narkose und dem Eingriff gelitten, z. B. Atemstörungen gezeigt hatten, und in der Leber Zeichen der „serösen Entzündung", vornehmlich im Läppchenzentrum, erkennen ließen.

BOSTON MEDICAL LIBRARY MAY 8 1907

Um die Frage eines möglichen Einflusses der Narkose auf unsere Versuchsergebnisse noch weiter zu klären, haben wir folgenden orientierenden Versuch vorgenommen:

Einem nicht narkotisierten Kaninchen wurden 5 cm³ 1%ige Trypanblau-Lösung intravenös injiziert. Nach 45 min wurde es durch Nackenschlag getötet, die Bauchhöhle sofort eröffnet, und die Leber- und Darmlymphgefäße wurden freigelegt. Aus beiden Lymphgefäßen wurde nach kurzem Aufstauen mit Hilfe einer lang ausgezogenen feinen Glaspipette 1 Tropfen Lymphe entnommen und auf ein Stück Filtrierpapier getupft. Dabei zeigte sich ein deutlicher Farbunterschied, indem die Leberlymphe etwa die gleiche Farbkonzentration zeigte wie das Blutplasma, während die Darmlymphe höchstens halb so stark gefärbt war. Auch beim nicht narkotisierten Tier läßt sich also ein deutlicher Unterschied zwischen Leber- und Darmlymphe beim Übertritt eines kolloidalen Farbstoffes aus der Blutbahn nachweisen. (Vgl. im übrigen die II. Mitteilung.)

Alle diese Beobachtungen schließen unseres Erachtens die Möglichkeit mit großer Wahrscheinlichkeit aus, daß die hohe Eiweißkonzentration der Leberlymphe Folge einer pathologischen Permeabilitätssteigerung der Lebercapillaren durch die Narkose ist, und wir halten uns für berechtigt, aus den am narkotisierten Tier gewonnenen Ergebnissen Rückschlüsse auf Bildung und Zusammensetzung der Leberlymphe auch unter physiologischen Bedingungen zu ziehen.

Über die *Verteilung der Eiweißfraktionen* in der Leberlymphe und ihr Verhältnis zu den im Blut herrschenden Konzentrationen liegen unseres Wissens bislang keine Untersuchungen vor. Es findet sich lediglich eine Reihe von Beobachtungen über den Albumin-Globulin-Quotienten der Ductus-thoracicus-Lymphe (z. B. Petersen und Mitarbeiter, Eppinger, Kaunitz und Popper, Field und Mitarbeiter). Die Ähnlichkeit der Elektrophoresediagramme von Blut- und Leberlymphserum (bzw. Plasma) war bei unseren Versuchen auffallend. Die Auswertung der Diagramme ergab aber bei 3 Tieren in der Leberlymphe einen höheren Albumin-Globulin-Quotienten als im Blut; die auf dem beschriebenen Wege gewonnene Leberlymphe enthält also etwas weniger Globulin als das Blutserum bzw. Plasma (vgl. Tab. 2). Noch weiter zu Gunsten des Albumins ist das Verhältnis in der Ductus-thoracicus-Lymphe verschoben, in der Quotienten bis 4,7 angetroffen werden (Petersen und Mitarbeiter). Bei Betrachtung unserer Tabellen gewinnt man den Eindruck, daß die Differenz hauptsächlich zu Lasten der γ-Globuline geht, doch ist bei der geringen Zahl der Tiere Zurückhaltung bei der Deutung dieses Befundes geboten. Als Erklärung wäre daran zu

denken, daß der Leberlymphe oberhalb der Entnahmestelle Globulinärmere Darmlymphe zugeflossen ist, oder daß die Wandungen der Lebercapillaren Globuline nicht so frei passieren lassen wie Albumin. Leider reichten die bei Katzen erhaltenen Lymphmengen nicht zur elektrophoretischen Untersuchung aus, so daß wir zu dieser Frage hier noch nicht endgültig Stellung nehmen können.

Besonders hinweisen möchten wir auf die Tatsache, daß auch *Fibrinogen* und *Prothrombin* in der Leberlymphe unserer Hunde in etwas geringerer Konzentration vorhanden waren als im Blut, wobei die Differenz etwa der des Gesamteiweißes entsprach.

Histologisch zeigten sich in den Lebern der Normaltiere keine pathologischen Veränderungen. Nur bei einzelnen Tieren, bei denen die Narkose sehr lange (über 6 –8 Std) ausgedehnt worden war, zeigten sich Veränderungen im Läppchenzentrum im Sinne der serösen Hepatitis, die wir als Folge der zeitweise schlechten Atmung, nicht als Ausdruck einer Pernoctonschädigung deuten möchten. Die Entfaltung der Disseschen Spalträume ist dabei wahrscheinlich *Folge* der hypoxämischen Leberzellschädigung, wie auch bei anderen Zuständen mangelhafter Sauerstoffversorgung (vgl. Altmann, Altmann u. Büchner). Der Eiweißgehalt der Leberlymphe war bei diesen Tieren der gleiche wie bei solchen mit histologisch unveränderter Leber. Diese Beobachtung scheint uns besonders geeignet, den von Eppinger und Mitarbeitern an der Ductus-thoracicus-Lymphe nach Allylformiatvergiftung gemachten Beobachtungen eine andere Deutung zu geben. Der Anstieg der Eiweißkonzentration in der Ductus-Lymphe bei der genannten Vergiftung ist danach eher auf Veränderungen in dem anderen großen Quellgebiet des Ductus thoracicus, nämlich den Darmcapillaren zurückzuführen, zumal ein Ödem der Magen- und Darmwand als charakteristische Folge der Allylformiatvergiftung beobachtet wird. Daß der Anstieg der Eiweißkonzentration in der Ductus-Lymphe Folge einer Permeabilitätssteigerung der *Leber*capillaren ist, ist nach unseren Beobachtungen unwahrscheinlich.

Bei den *tetrachlorkohlenstoffvergifteten* Hunden sind keine besonders auffälligen Veränderungen des Elektrophoresediagramms des Blut- und Leberlymphserums festzustellen. Auch die Prothrombinkonzentration war bei 2 vergifteten Hunden (Nr. 12 und 16) nicht wesentlich vermindert. Der Eiweißgehalt der Leberlymphe lag bei den beiden Hunden mit den schwersten histologischen Veränderungen (Nr. 9 und 11) mit 87 bzw. 85% der Bluteiweißkonzentration etwas höher als bei Normaltieren, der Albumin-Globulin-Quotient entsprach bei einem dieser Tiere genau dem des Blutserums.

Histologisch zeigte dieses Tier schwere läppchenzentrale, stellenweise bis an die Peripherie heranreichende Lebernekrosen und an den Stellen, wo die Nekrosen

die periportalen Felder erreichten, ein deutliches Ödem zwischen den Bindegewebsfasern sowie eine maximale Erweiterung und Füllung der periportalen Lymphgefäße (Abb. 1). Man gewann den Eindruck, daß das die Nekrose durchsetzende Exsudat, das wohl im wesentlichen aus Blutplasma, vermischt mit Eiweiß aus nekrotischen Leberzellen, besteht, hier unmittelbar in die erweiterten periportalen Lymphgefäße aufgenommen wird.

Bei den Tieren, bei denen die Nekrosen auf das Läppchen*zentrum* beschränkt waren, zeigte das periportale Bindegewebe dagegen eine ganz dichte Struktur, und die Lymphgefäße waren kollabiert, häufig

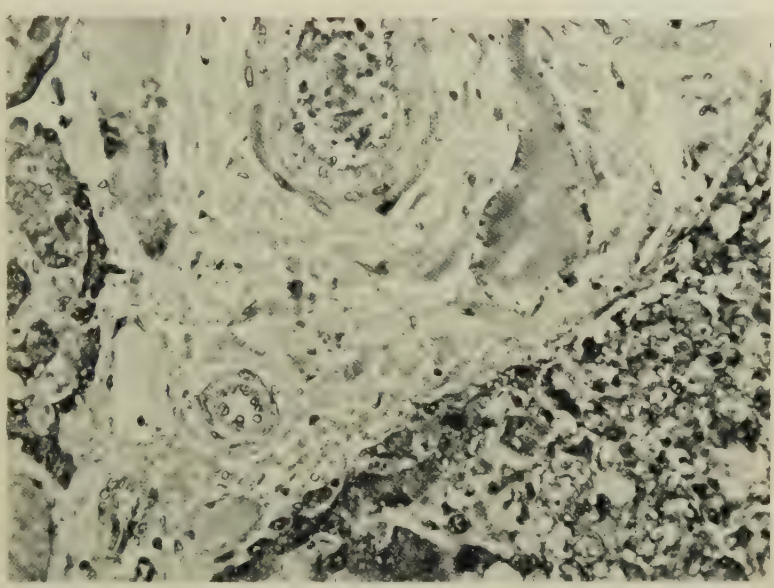


Abb. 1. Ödem des periportalen Bindegewebes, Erweiterung der periportalen Lymphgefäße und Füllung mit eiweißreicher Lymphe bei bis an die Läppchenperipherie reichenden Lebernekrosen nach Tetrachlorkohlenstoffvergiftung beim Hund.

kaum aufzufinden (Abb. 2). Zu einem periportalen Ödem scheint es bei den vergifteten Hunden nur dann zu kommen, wenn die Nekrosen unmittelbar an das periportale Feld heranreichen. Auch die bei Hund Nr. 6 nach Injektion von Tetrachlorkohlenstoff in die Pfortader erhobenen Befunde passen in dieses Bild. Dieses Tier zeigte ausgedehnte, von Blutungen durchsetzte Nekrosen in der Läppchen*peripherie*, stellenweise waren sogar die periportalen Felder in die Nekrosen einbezogen. Bei diesem Tier wurde die Leberlymphe kurze Zeit nach der Injektion des Tetrachlorkohlenstoffs stark blutig.

Eine ähnliche Beobachtung — blutige Leberlymphe nach Tetrachlorkohlenstoffvergiftung — erwähnen auch Cain u. Mitarb., die ihre Hunde nach Anlegung der Leberlymphfistel Tetrachlorkohlenstoffdämpfe einatmen ließen. Histologische Befunde teilen diese Autoren nicht mit, so daß über das Ausmaß der nekrotischen

Veränderungen nichts ausgesagt werden kann. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß auch bei der Allylformiatvergiftung des Hundes die Veränderungen vornehmlich in der Läppchenperipherie angetroffen werden (Eppinger, Kaunitz u. Popper; Popper 1937). Diese Autoren bilden die Leber eines allylformiatvergifteten Hundes ab, die eine ausgedehnte „hämorrhagische Destruktion" der Läppchenperipherie und eine blutige Durchsetzung der periportalen Felder erkennen läßt. Daß es dabei zu erheblichen Veränderungen der Ductus-thoracicus-Lymphe mit Auftreten von Erythrocyten darin kommt, leuchtet ein. Für eine seröse Entzündung im Sinne Eppingers, d. h. eine *intralobuläre* Exsudation mit

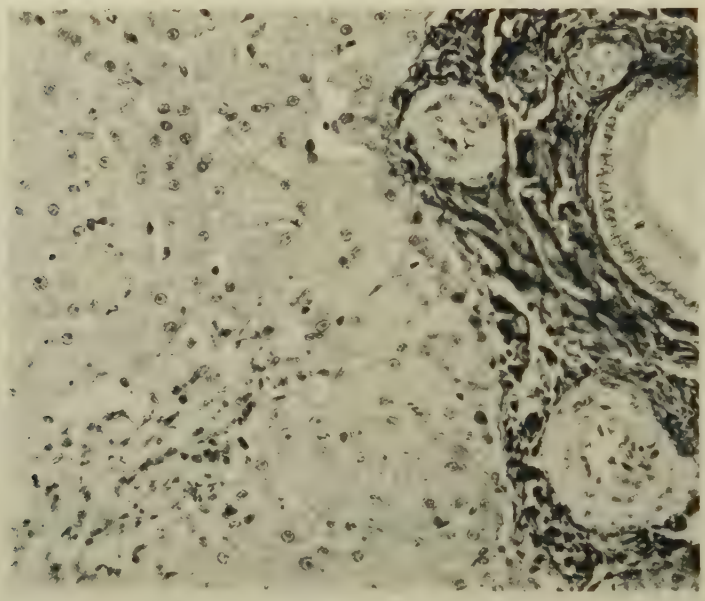


Abb. 2. Normales periportales Feld bei auf das Läppchenzentrum beschränkter Nekrose (am linken unteren Bildrand äußerster Rand der Nekrose). Lymphgefäße kollabiert, kaum zu erkennen.

Ableitung des Exsudates durch die pericapillären Lymphspalten in die Peripherie, sind diese Befunde nach dem Gesagten aber nicht beweisend.

Die sehr geringfügigen Veränderungen im Eiweißgehalt und Elektrophoresediagramm von Blut- und Leberlymphserum nach Tetrachlorkohlenstoffvergiftung sind also mit aller Vorsicht wohl so zu deuten, daß nur bei sehr ausgedehnten, insbesondere bis an das periportale Feld heranreichenden Nekrosen Blutplasma, vermischt mit Eiweiß aus untergehenden Leberzellen unmittelbar in das periportale Bindegewebe einsickert und von den dortigen Lymphgefäßen aufgenommen wird. Auf das Läppchen*zentrum* beschränkte Nekrosen bleiben dagegen hinsichtlich Eiweißgehalt und Verteilung der Fraktionen in der Leberlymphe ohne Folgen.

Unsere Beobachtungen stimmen mit neueren Arbeiten überein, die gezeigt haben, daß *akute* Schädigungen des Leberparenchyms keinen Einfluß auf Menge und Verteilung der Bluteiweißkörper ausüben (YASUDA, CHENG). Sie sind somit geeignet, die neuerdings von namhaften Autoren geäußerte Ansicht zu stützen, daß die epitheliale Leberzelle selbst nicht direkt an der Produktion der Plasmaeiweißkörper beteiligt ist, sondern nur Katalysatoren für die generell im Plasmareticulum erfolgende Synthese *aller* Plasmaeiweißkörper bereitstellt (POLI).

Zu der eingangs gestellten Frage, ob der hohe Eiweißgehalt der Leberlymphe Folge einer besonders hohen Permeabilität der Lebercapillaren ist, oder durch den Übertritt von neugebildetem Eiweiß aus den Leberzellen in die Lymphe verursacht wird, können wir hier noch keine endgültige Stellung nehmen. Immerhin erscheint uns die erstere Auffassung bereits nach dem Ergebnis dieser beiden ersten Versuchsreihen wahrscheinlicher. Zu ihrer Stützung haben wir in weiteren Untersuchungen den Übertritt von kolloidalen Substanzen aus dem Blut in die Leberlymphe geprüft.

Zusammenfassung.

1. Bei normalen Hunden und Katzen und tetrachlorkohlenstoffvergifteten Hunden wurde die Leberlymphe auf Eiweißgehalt und Verteilung der Fraktionen untersucht. Die Lymphe wurde nach dem von CAIN und Mitarbeitern angegebenen Verfahren durch Drainage der extrahepatischen Leberlymphgefäße unterhalb der portalen Lymphknotengruppe, bei Katzen auch oberhalb davon aus den auf der Pfortaderwand verlaufenden Leberlymphgefäßen gewonnen.

2. Bei Hunden wurden 70—80%, bei Katzen bis 97,8% der Bluteiweißkonzentration in der Leberlymphe gefunden. Die Differenz zwischen Eiweißkonzentration von Blut- und Leberlymphserum (bzw. Plasma) geht zu Lasten der Globuline, während der Albumingehalt der gleiche ist.

3. Nach akuter Tetrachlorkohlenstoffvergiftung wurden weder in Blut, noch Leberlymphe auffällige Veränderungen im Eiweißgehalt und Verteilung der Fraktionen beobachtet, insbesondere wenn die Nekrosen nur das Läppchenzentrum betrafen. Nur bei sehr ausgedehnten, an die periportalen Felder heranreichenden Nekrosen fand sich eine weitgehende Angleichung der Eiweißkonzentration der Leberlymphe an die des Blutplasmas.

Literatur.

ALTMANN, H. W.: Frankf. Z. Path. **60**, 376 (1949). — ALTMANN, H. W., u. F. BÜCHNER: in: Allg. Path. II (FIAT-Veröff.). Wiesbaden: Dieterich 1948. — ARNOLD, R. M., and L. B. MENDEL: J. of Biol. Chem. **72**, 189 (1927). — AXENFELD, H., u. K. BRASS: Frankf. Z. Path. **57**, 147 (1942). — BAYLISS, W. M., and E. H. STARLING: J. of Physiol. **16**, 159 (1894). — BEIGLBÖCK, W.: Z. klin. Med. **143**, 530 (1944). — BRINKHOUS, K. M., and S. A. WALKER: Amer. J. Physiol. **132**, 666 (1941). — CAIN, J. H., J. H. GRINDLAY, J. L. BOLLMANN, E. V. FLOCK and F. C.

Mann: Surg. etc. **85**, 559 (1947). — Drinker, C. K., and M. E. Field: Lymphatics, Lymph and Tissue Fluid. London 1933. — Drinker, C. K., and J. M. Yoffey: Lymphatics, Lymph and Lymphoid Tissue. Their physiological and clinical significance. Cambridge (Mass.): Harward Univ. Press 1941. — Eppinger, H.: Die Leberkrankheiten. Wien: Springer 1937. — Die Permeabilitätspathologie. Wien: Springer 1949. — Eppinger, H., H. Kaunitz u. H. Popper: Die seröse Entzündung. Wien: Springer 1935. — Funaoka, S.: Arb. Anat. Inst. Univ. Kyoto, Serie D, H. 5, 247 (1935/36). — Günther, G. W.: Frankf. Z. Path. **54**, 550 (1940). — Holler, G.: Die epidemischen Gelbsuchtskrankheiten. Berlin-Wien: Urban & Schwarzenberg 1943. — Knisely, M. H.: in: Liver Injury, 8. Conference. New York 1949. — McCarell, J. D., S. Thayer and C. K. Drinker: Amer. J. Physiol. **133**, 79 (1941). — Petersen, W. F., R. H. Jaffé, S. A. Lewinson and P. H. Hughes: J. of Immun. **8**, 337 (1923). — Petersen, W. F., S. A. Lewinson and P. H. Hughes: J. of Immun. **8**, 323 (1923). — Phillips, van Slyke u. Mitarb.: zit. nach Reiser. — Poli, E.: Fisiopatologia e clinica del Protidoplasma. Milano 1951. — Popper, H., u. L. Gerzner: Z. klin. Med. **128**, 547 (1935). — Reiser, M.: Dtsch. med. Wschr. **1948**, 532. — Rössle, R.: Virchows Arch. **311**, 252 (1944). — Siegmund, H.: Münch. med. Wschr. **1942**, 463. — Virchows Arch. **311**, 180 (1944). — Starling, E. H.: J. of Physiol. **16**, 224, 230 (1894). — Sumiya, S.: Arb. Anat. Inst. Univ. Kyoto (Serie D) **145**, 102 (1937). — Volwiler, W.: Proc. Staff. Meet. Mayo Clin. **25**, 2 (1950). — Wells, H. S.: Amer. J. Physiol. **101**, 421 (1932). — White, C. J., M. E. Field and C. K. Drinker: Amer. J. Physiol. **103**, 34 (1933). — With, Th. K.: Acta med. scand. (Stockh.) Suppl. 234 (1949). — Wuhrmann, F., u. C. H. Wunderly: Die Bluteiweißkörper des Menschen. Basel: B. Schwabe 1947.

Doz. Dr. Hans Adolf Kühn, Freiburg/Br.,
Med. Universitäts-Klinik, Hugstetter Str. 55.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 57–63 (1953).

Aus der pharmakologischen Abteilung der Nordmark-Werke GmbH.,
Werk Uetersen/Holstein.

Die Bedeutung zentralerregender Wirkungen für die Hemmung des Elektrokrampfes.

Von

GÜNTHER STILLE.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Juni 1952.)

Über den Wirkungsmechanismus der Antikonvulsiva ist bis heute nur recht wenig bekannt. Die verbreitete Vorstellung, daß der krampfhemmende Effekt Ausdruck einer sedativen Wirkung ist, scheint jedoch zu mindest für eine Reihe antiepileptischer Verbindungen, besonders auch für das Diphenylhydantoin (Zentropil), einer Überprüfung zu bedürfen.

Vom Diphenylhydantoin (DH) ist bekannt, daß es in toxischen Dosen deutlich erregende Eigenschaften aufweist[1].

Mit DH behandelte Mäuse laufen mit typischem breitbeinigem Gang erregt im Käfig hin und her. Die Schwanzhaltung ist ähnlich der nach Morphin. Schon bald erscheinen die Bewegungen unkoordiniert und der hastende Gang wird taumelnd. Die Atmung ist beschleunigt und man beobachtet Exophthalmus. Die Tiere zittern und die Bewegungen sind ausfahrend. Nach höheren Dosen kommt es zu Drehbewegungen um die Längsachse und zu opistotonischen Krämpfen. Schließlich tritt Seitenlage ein, und im häufig mehrere Tage anhaltenden Koma beobachtet man Laufbewegungen und wiederkehrende konvulsive Zuckungen. TEUTSCH[2] konnte bei Ratten nach DH eine Temperatursenkung feststellen, die möglicherweise, da sie durch Diäthylbarbitursäure (Veronal) abgeschwächt wird, einer erregenden Wirkung auf das noch hypothetische Kühlzentrum im Sinne von HAHN[3] zugeschrieben werden kann.

WOLF[4] versuchte exzitierende Wirkungen von narkotischen Stoffen und Rauschgiften mit Hilfe des Elektroschockverfahrens nachzuweisen und stellte überraschend fest, daß z. B. beim Cocain Exzitationserscheinungen mit einer Erhöhung der Elektrokrampfschwelle (tonischer Krampf) um mehr als 35 Volt einhergehen können. In keinem Fall kam es im Exzitationsstadium von Narkoticis und Alkaloiden (Morphin, Atropin, Nicotin) zu einer Senkung der Elektrokrampfschwelle. Erst kürzlich wies HERKEN[5] auf die Unabhängigkeit von krampfhemmenden Eigenschaften und narkotischer Wirkung hin. Beim γ-Hexachlorcyklohexan beobachtete er neben vorübergehenden, initialen Vergiftungserscheinungen in Gestalt von generalisierten Krämpfen eine deutliche antikonvulsive Wirkung gegen Cardiazol, Pikrotoxin und Coramin.

Für DH[6] und Cocain[4] ist nun eine ganz bestimmte Veränderung des Elektrokrampfbildes typisch. Es kommt nach Vorbehandlung mit entsprechenden Dosen dieser Stoffe zum Ausfall der tonischen Krampfphase. Auch beim Cardiazol-Schock zeigt DH nach eigenen Beobachtungen diese Wirkung auf den tonischen Krampf, während die klonischen Entladungen deutlich gesteigert sind und über Stunden andauern können.

Für das gleichzeitige Auftreten von erregenden und antikonvulsiven Wirkungen findet Chauchard[7] an Hand von chronaxiemetrischen Untersuchungen die Erklärung darin, daß DH die corticalen Neurone hemmt, jedoch die subcorticalen Zentren durch eine cardiazolähnliche Wirkungskomponente erregt. DH soll demnach *neben* einer krampfhemmenden Wirkung auf den Elektroschock noch eine erregende Komponente haben, die in subcorticalen Zentren wirksam werden soll.

Die Frage, *ob und wie weit die erregenden Eigenschaften des DH und Cocain ihre Wirkung auf die tonische Krampfphase* zu erklären vermögen, ist meines Wissens in der Literatur bisher nicht gestellt. Zieht man jedoch in Betracht, daß gerade beim DH und Cocain im Vergiftungsbild Erregungserscheinungen vorherrschen, andererseits aber bei beiden Stoffen eine fast elektive Wirkung auf die tonische Krampfphase nachzuweisen ist, so liegt es nahe, an eine Beziehung zwischen Exzitation und hemmender Wirkung auf den tonischen Krampf zu denken.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde nun die Wirkung von β-Phenylisopropylamin (Elastonon, Benzedrin), dessen erregende Eigenschaften auf höhere Regionen des Gehirns und besonders auf Großhirn und Subcortex bekannt sind[8], auf die antikonvulsive Wirkung von DH und Phenyläthylbarbitursäure (Luminal) im Elektroschock und auf die Motilität der behandelten Tiere untersucht.

Methodik.

Beim Elektroschock bedienten wir uns der von Gerlich[9] für Meerschweinchen angegebenen Methode, die inzwischen Wolf[4] und Teutsch[2] auch bei Ratten benutzten.

Bei Anordnung des Versuches verwendeten wir eine Modifikation der von Toman, Swinyard u. Goodman[10] angegebenen Methode des „maximal electroshock seizure". Jedoch wurden die Untersuchungen nicht, wie von den amerikanischen Autoren an Ratten, sondern an Mäusen im Gewicht von 17—20 g durchgeführt. Vorversuche hatten gezeigt, daß das Verhalten der Mäuse im Elektroschock das gleiche ist wie von Ratten.

Die Mäuse erhielten die Substanzen unter die Nackenhaut injiziert und wurden dann 1 Std nach der Injektion bei 80 V Spannung, einem überschwelligen Reiz, bei dem 100% der unbehandelten Tiere mit Streckkrampf reagieren, geschockt. Es wurde nun bei jeder Gruppe die Zahl der Tiere festgestellt, die mit tonischem Streckkrampf reagierten bzw. keinen Streckkrampf zeigten. Zur Ermittlung der Regressionslinie wurde die Zahl der nicht mit Streckkrampf auf den Reiz

antwortenden Tiere zum Logarithmus der verwendeten Dosis der Substanz in Beziehung gesetzt und in das Wahrscheinlichkeitsnetz (Abszisse: Logarithmus der Dosis; Ordinate: Wirkungsprozentsatz, geteilt nach dem Gauss'schen Integral) eingetragen. Jeder Kurvenpunkt wurde an mindestens 20 Tieren ermittelt. Ferner wurde die Gleichung der Regressionslinie, ihre Steigung und die mittlere effektive Dosis (DE 50) nach Burn[11] arithmetisch festgelegt. Die DE 50 stellt die Dosis dar, bei der 50% der Tiere mit Streckkrampf reagieren bzw. keinen Streckkrampf zeigen. Der mittlere Fehler des Resultats (ε) wurde nach Miller u. Tainter[12] ermittelt und die Signifikanz der Unterschiede der DE 50 verschiedener Versuche nach der Formel $\frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\varepsilon_1^2 + \varepsilon_2^2}}$ in der üblichen Weise errechnet.

DH wurde als Natriumsalz verwendet. Jede Dosis von DH und Phenyläthylbarbitursäure wurde in 0,5 cm³ und β-Phenylisopropylaminsulfat in 0,25 cm³ Lösung verabreicht.

Die Motilität der Mäuse wurde nach der Methode von Druckrey[13] registriert. Jeder Versuch wurde an 10 Mäusen durchgeführt, wobei besonders unruhige Tiere nach einer Vorbeobachtungszeit vom Versuch ausgeschlossen wurden.

Befunde.

Antikonvulsive Wirkung.

Diphenylhydantoin (Zentropil) wurde in Dosen von 10, 15, 20 und 25 mg/kg an je 20 Mäuse subcutan verabreicht. In einer weiteren Versuchsreihe erhielten je 20 Mäuse neben DH in Dosen von 5, 10, 15, 20 mg/kg 10 mg/kg β-Phenylisopropylaminsulfat (Elastonon) subcutan injiziert. Die Prüfung im Elektroschock erfolgte 1 Std. nach der Injektion Die Ergebnisse sind in Tab. 1 zusammengefaßt:

Tabelle 1.

Dosis DH in mg/kg	ohne Phenylisopropylamin			mit 10 mg/kg Phenylisopropylamin		
	Gesamtzahl	Tiere ohne Streckkrampf		Gesamtzahl	Tiere ohne Streckkrampf	
		Zahl	%		Zahl	%
5	—	—	—	20	9	45
10	20	4	20	20	12	60
15	20	9	45	20	17	85
20	20	17	85	20	20	100
25	20	20	100	—	—	—
	DE 50 = 14,5 $\varepsilon = \pm$ 0,84			DE 50 = 7,1 $\varepsilon = \pm$ 0,87		

Die Differenz der DE 50 ohne und nach Behandlung mit Phenylisopropylamin ist mit K = 6,12 hochsignifikant.

Das Ergebnis dieses Versuches sagt aus, daß die Wirksamkeit von DH durch gleichzeitige Behandlung mit Phenylisopropylamin um etwa das Doppelte gesteigert wird.

In der gleichen Versuchsanordnung wurde auch Phenyläthylbarbitursäure, und zwar in Dosen von 10, 20, 30 und 40 mg/kg mit und ohne Zugabe von Phenylisopropylamin geprüft. Das Ergebnis zeigt Tab. 2.

Tabelle 2.

Dosis Phenyläthylbarb. in mg/kg	ohne Phenylisopropylamin			mit 10 mg/kg Phenylisopropylamin		
	Gesamtzahl	Tiere ohne Streckkrampf		Gesamtzahl	Tiere ohne Streckkrampf	
		Zahl	%		Zahl	%
10	20	1	5	30	10	33,3
20	20	6	30	30	25	83,3
30	30	15	50	30	26	86,6
40	20	20	100			
	DE 50 = 29,5 mg/kg $\varepsilon = \pm 3{,}6$			DE 50 = 12,7 mg/kg $\varepsilon = \pm 1{,}3$		

Auch hier ist die Differenz zwischen der DE 50 ohne und mit Phenylisopropylamin mit k = 4,3 eindeutig signifikant. Demnach steigert Phenylisopropylamin die krampfhemmende Wirkung von Phenyläthylbarbitursäure um etwa das 2,3fache.

Motilität.

Wie aus Abb. 1 ersichtlich, zeigen die Mäuse nach subcutaner Injektion von 20 mg/kg DH zur Zeit des Elektroschocks nur eine geringe Steigerung ihrer Spontanaktivität. Starke Erregungserscheinungen treten erst mit höherer Dosis auf.

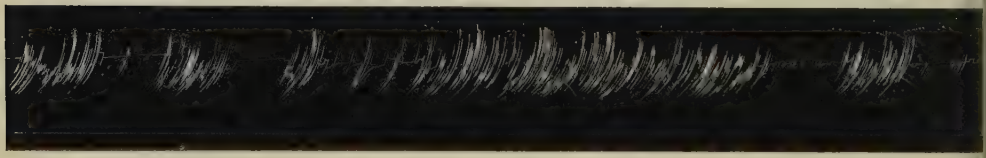


Abb. 1. Motilität der Maus nach subcutaner Injektion von 20 mg/kg Diphenylhydantoin (↑ 1); Zeit des Elektroschocks (↑ 2).

Bei gleichzeitiger Behandlung mit 10 mg/kg β-Phenylisopropylaminsulfat zeigt sich bei allen Tieren schon wenige Minuten nach der Injektion eine starke Zunahme der Motilität. Zur Zeit des Elektroschocks laufen die Tiere rastlos umher und weisen einen typischen Manegetrieb auf (Abb. 2).

Nach subcutaner Injektion von 30 mg/kg Phenyläthylbarbitursäure ist zur Zeit des Schocks die sedative Wirkung deutlich ausgeprägt. Die

Tiere sitzen in Schlafstellung, reagieren jedoch auf Reiz. Wird gleichzeitig mit der Phenyläthylbarbitursäure 10 mg/kg Phenylisopropylamin injiziert, so ist eine deutliche Steigerung der Spontanaktivität festzustellen. Einzelne Tiere zeigen sogar Manegebewegungen.

Besprechung der Ergebnisse.

Es zeigte sich, daß die Wirkung von DH und Phenyläthylbarbitursäure auf die tonische Phase des Elektroschocks nicht an einen sedativen Effekt gebunden ist, vielmehr nimmt sowohl nach DH, als auch nach

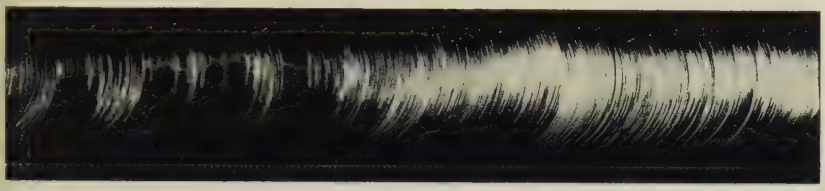


Abb. 2. Motilität der Maus nach subcutaner Injektion von 20 mg/kg Diphenylhydantoin und 10 mg/kg Phenylisopropylaminsulfat (↑ 1); Zeit des Elektroschocks (↑ 2).

Phenyläthylbarbitursäure bei gleichzeitiger Behandlung mit Phenylisopropylamin die antikonvulsive Wirkung deutlich zu. Offensichtlich sind demnach aktive Vorgänge an der Hemmung zentraler Entladungen beteiligt.

Wie läßt sich nun diese Vorstellung in die modernen Erkenntnisse der Neurophysiologie einordnen?

Die Aktivität des Gehirns unterliegt einem außerordentlich feinen System homoeostatischer Regulationen. Krampfphänomene sind immer Ausdruck abnormer Funktionsabläufe und zeigen, daß das normale Gleichgewicht zwischen Erregung und Hemmung durchbrochen ist. Sie unterscheiden sich grundsätzlich von der physiologischen Hirntätigkeit[14]. Normalerweise gelingt es dem Gehirn, synchrone Entladungen und Krampferscheinungen zu verhindern. Die hierbei tätigen Gegenregulationen sind als aktive Leistungen der Nervensubstanz aufzufassen und gehen mit entsprechenden hirnelektrischen Aktionspotentialen einher.

1936 entdeckte Hines[15], daß elektrische Reizung eines schmalen Streifens im präzentralen Teil des Cortex zur Hemmung jeglicher Muskeltätigkeit der kontralateralen Körperseite führt. Dusser de Barenne[16] fand dabei einen deutlichen Anstieg der Reizschwelle in der motorischen Region. Das Vorhandensein weiterer hemmender Rindenareale kann heute als erwiesen gelten. Smith[17] zeigte, daß Reizung des rostralen Teils des Gyrus cinguli eine starke Hemmung der Nachentladungen („after-discharge") nach Reizung des präzentralen Rindenfeldes bewirkt und Krampferscheinungen nach Rindenreizung aufhebt. McCulloch fand bei lokaler Applikation von Strychnin auf den Gyrus cinguli eine deutliche Hemmung der Skeletmuskelaktivität und Unterdrückung der spontanen elektrischen

Entladung in den präzentralen Feldern. Man nimmt an[18], daß die hemmenden Impulse auf die motorischen Rindenzentren von der Rinde über den N. caudatus zum Globus pallidus und von hier über den Thalamus und die thalamocorticalen Verbindungen zurück zur Rinde verlaufen. Es ist zu bemerken, daß alle diese Untersuchungen an narkotisierten Tieren durchgeführt wurden.

Ein weiteres die Motorik hemmendes System, dessen Bedeutung besonders für die tonischen Phänomene nachgewiesen wurde, gruppiert sich funktionell um die Substantia reticularis des Hirnstammes. Reizung des ventromedialen Teiles der Substantia reticularis führt zur Hemmung spinaler Reflexe und zur Aufhebung der Enthirnungsstarre. Es kommt zur Desynchronisation der corticalen elektrischen Aktivität[19] und zur Hemmung der von der Rinde ausgehenden motorischen Impulse[20]. Die hemmenden Teile der Substantia reticularis erhalten Impulse von der Rinde, vom N. caudatus und vom Kleinhirn[21].

Wahrscheinlich kommt aber der Erregung als hemmender Faktor für die Hirntätigkeit weit allgemeinere Bedeutung zu und ist durchaus nicht an bestimmte anatomische Substrate gebunden.

Tönnies[22] prägt an Hand von Studien an den Motoneuronen des Rückenmarks den Begriff der „Rückmeldung". Er versteht hierunter „rückläufige Rapporte über den Erfolg in die reizgebenden Strukturen, um unnötige weitere Erregungen zu vermeiden oder um diese in andere Motoneuronen umzulenken". Die Rückmeldung hat also die Aufgabe, eine unphysiologische Aktivitätssteigerung zu verhindern. So führt nach den Vorstellungen von Tönnies ein Anwachsen der erregenden Energie zu einer Bremsung. Vielleicht kann mit Hilfe des Rückmeldungsprinzips nicht nur Funktion und Bedeutung der genannten hemmenden Systeme, denen möglicherweise ähnliche Funktionen zukommen wie den Zwischenneuronen des Rückenmarks[22], gedeutet werden, sondern auch die Wirkung erregender Stoffe auf den Ablauf von Krampfphänomenen. Wäre doch denkbar, daß gewisse erregende Stoffe durch ihren Angriff in den Ganglienzellen derartiger Neuronenketten, zu einer fortdauernden Erregung und damit zu einer Bremsung der corticalen und auch subcorticalen motorischen Zentren führen. Es erscheinen so exzitierende und krampfhemmende Eigenschaften von Pharmaka nicht als unabhängige Wirkungen, sondern als Ausdruck des gleichen pharmakologischen Effektes.

In diesem Zusammenhang sind von Weinland u. Kröber[23] durchgeführte encephalographische Untersuchungen an Epileptikern nach intravenöser und subcutaner Injektion von 1-Phenyl-2-methylaminopropan (Pervitin) von Interesse. Die Autoren beobachteten nach intravenösen und subcutanen Einzelgaben neben einer mäßigen Steigerung und damit beginnenden Normalisierung des Grundrhythmus, vor allem hinsichtlich der occipitalen α-Gruppen, eine deutliche zahlenmäßige Verminderung der spontan auftretenden Krampfpotentiale.

Jung und Tönnies[14] sehen gerade in den Normalrhythmen einen wichtigen Faktor des Krampfschutzes. Nach ihren Vorstellungen verhindern „die normalen Rhythmen des Gehirns durch eine geregelte Abwechslung der tätigen Nervenzellen, daß zu viele Neurone gleich-

zeitig maximale Entladungsbereitschaft erlangen. Die Normalrhythmen erhalten so eine Ordnung und ein relatives Gleichgewicht von Erregung und Hemmung im ZNS und würden damit unter anderem auch einen Faktor der Bremsung darstellen."

Man muß also mit Jung und Tönnies annehmen, daß das Wesen des Krampfes nicht in einer gesteigerten Erregbarkeit, sondern in Versagen bremsender Hirnmechanismen liegt. Für die Pharmakologie ergibt sich aus dieser Erkenntnis die Notwendigkeit, ihre Vorstellungen vom Wesen der antikonvulsiven Wirkung zu überprüfen. Es wird sich vielleicht herausstellen, daß es nicht nur „eine Lähmung von Hemmungen" (Schmiedeberg[24]), sondern auch eine „Erregung von Hemmungen" gibt. Sedative und erregende Wirkungen, krampfauslösende und krampfhemmende Eigenschaften würden so ihre Polarität verlieren.

Zusammenfassung.

Mit Hilfe von Elektroschock- und Motilitätsuntersuchungen gelang es zu zeigen, daß nach Diphenylhydantoin und Phenyläthylbarbitursäure bei gleichzeitiger Behandlung mit β-Phenylisopropylaminsulfat mit der Spontanaktivität der Tiere auch die antikonvulsive Wirkung, gemessen am tonischen Streckkrampf, deutlich zunimmt. Die Wirkung von Diphenylhydantoin und Phenyläthylbarbitursäure auf die tonische Phase des Elektroschocks ist also nicht an einen sedativen Effekt gebunden. Es wird versucht, diese Beobachtung in die modernen neurophysiologischen Erkenntnisse einzuordnen.

Literatur.

[1] Gruber, Haury and Drake: J. of Pharmacol. **68**, 433 (1940). — [2] Teutsch: Inaug.-Diss. d. Univ. Göttingen 1951. — [3] Bruns, Hahn u. Schild: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 104 (1950). — [4] Wolf: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **214**, 14 (1951). — [5] Herken: Arzneimittelforschg **1**, 356 (1951). — [6] Swinyard: J. Amer. Pharmaceut. Assoc., scint. Ed. **38**, 201 (1949). — [7] Chauchard: zit. nach Teutsch. — [8] Alles: J. of Pharmacol. **47**, 339 (1933). — [9] Gerlich: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 311 (1950). — [10] Toman, Swinyard and Goodman: J. of Neurophysiol. **9**, 231 (1946). — [11] Burn: Biol. Auswertungsmethoden. Berlin 1937. — [12] Miller and Tainter: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **57**, 261 (1944). — [13] Druckrey u. Köhler: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **183**, 106 (1936). — [14] Jung u. Tönnies: Arch. f. Psychiatr. u. Z. Neur. **185**, 701 (1950). — [15] Hines: Amer. J. Physiol. **116**, 76 (1936). — [16] Dusser de Barenne, Garol and McCulloch: J. of Neurophysiol. **4**, 330 (1941). — [17] Smith: J. of Neurophysiol. **8**, 241 (1945). — [18] Fulton: A Textbook of Physiology 1949. — [19] Moruzzi and Magoun: EEG Clin. Neurophysiol. **1**, 455 (1949). — [20] Magoun and Rhines: J. of Neurophysiol. **9**, 165 (1946). — [21] Nelsen, Black and Drake: Fed. Proc. **7**, 86 (1948). — [22] Tönnies: Arch. f. Psychiatr. u. Z. Neur. **182**, 478 (1949). — [23] Weinland u. Kröber: Arch. f. Psychiatr. u. Z. Neur. **183**, 226 (1950). — [24] Schmiedeberg: Grundriß d. Pharmakologie, 6. Aufl., S. 52, 1909.

Dr. Günther Stille,
Nordmark-Werke GmbH., Werk Uetersen/Holstein, Pharmakologische Abteilung.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 64—81 (1953).

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Prof. E. Blechschmidt), Histologische Abteilung (Prof. R. Bachmann),
und dem Institut für Medizin. Physik und Biophysik der Universität Göttingen
(Direktor: Prof. E. Witte).

Über Strahlendosisverteilung und Organschäden nach Thorium X-Applikation und ihre Beeinflußbarkeit durch Dithiopropanol (BAL).

Von
Karlheinz Neumann und Eberhard Harbers.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Juni 1952.)

Die Thorium X-Therapie ist seit einigen Jahren wieder in den Vordergrund des Interesses gerückt. Durch Troch[1] wurde dieser kurzlebige α-Strahler inVerbindung mit einem Platin-Sol als stark positiv geladenem Kolloid („Peteosthor") für die Behandlung der Knochentuberkulose eingeführt. Über dieses viel diskutierte Anwendungsgebiet hinaus hat das Thorium X heute einen Platz in der Therapie des Morbus Bechterew gefunden. Dabei wird es jetzt meist allein ohne das Platin-Sol verabreicht.

Bei der Therapie mit α-Strahlern ist beträchtliche Vorsicht am Platze. Wegen der großen Ionisationsdichte der α-Teilchen schätzt man ihre biologische Wirksamkeit um den Faktor 20 höher als die äquivalente physikalische Strahlendosis von Röntgen-, γ- oder β-Strahlen[2, 3]. Darüber hinaus wird das Strahlendosisproblem noch kompliziert durch Verlagerungen der in vivo entstehenden Folgeprodukte des Thorium X sowie durch die Art der Feinverteilung der Radioelemente innerhalb der Gewebe [4,5].

Harbers[5] stellte quantitative Untersuchungen über die Verlagerungen des in vivo entstehenden Thorium B an, die 1943 erstmals von Wolf, Born u. Catch[6] beobachtet worden waren. Er fand dabei eine beträchtliche Anreicherung des Blei-Isotops Thorium B in der Leber und wies auf die Möglichkeit einer daraus resultierenden Strahlenschädigung dieses Organs hin. In der Tat sind vereinzelte Fälle von Gelbsucht im Verlaufe der Behandlung mit Thorium X bekannt geworden[7], ohne daß indes eine eindeutige Entscheidung getroffen werden konnte, ob es sich dabei um eine unabhängig von der Thorium X-Applikation erworbene homologe Serum-Hepatitis oder um einen durch das Thorium X hervorgerufenen Leberschaden handelte.

Aus diesen Gründen schien es wünschenswert, genauer zu untersuchen, ob bei der therapeutischen Dosierung von Thorium X Strahlenschäden — insbesondere in der Leber — auftreten können, und welcher

Natur diese Veränderungen sind, wenn sie bei überhöhter Dosierung erzeugt werden.

Weiterhin sollte geprüft werden, ob durch gleichzeitige Gaben von Dithiopropanol (= BAL = British Anti-Lewisit) eine beschleunigte Ausscheidung des Thorium B aus der Leber und damit eine Herabsetzung der dieses Organ treffenden Strahlendosis möglich ist. Die Klärung dieser Frage sollte mit histologischen, histochemischen und physikalischen Methoden versucht werden.

Der Gedanke, durch BAL-Gaben die Strahlendosis in der Leber zu senken, beruht auf folgenden Überlegungen: Schwermetalle reagieren leicht mit Sulfhydrilgruppen, so auch mit den beiden SH-Gruppen des Dithiopropanol (BAL). Der so entstehende Metall-BAL-Komplex wird sehr rasch durch die Nieren ausgeschieden. Diese Wirkung des BAL wird heute zur Behandlung von Metallvergiftungen ausgenutzt. So wie sich in diesen Fällen die Ausscheidung der toxischen Metalle beschleunigen läßt, war nach BAL-Applikation auch mit der Möglichkeit schnelleren Abtransportes des in vivo entstehenden Blei-Isotops Thorium B zu rechnen. Die Ausscheidung des therapeutisch wirksamen Thorium X (= Radium-Isotop) wird durch BAL nicht beeinflußt[8, 9]*.

Ferner erschien es der Nachprüfung wert, ob BAL, ähnlich wie das ebenfalls eine SH-Gruppe tragende Cystein[10], eine Resistenzsteigerung gegen ionisierende Strahlen bewirkt.

I. Material und Methodik.

Die morphologischen Untersuchungen sowie die Testung der Steigerung der Strahlenresistenz wurden an erbreinen Mäusen vorwiegend des Stammes BLH durchgeführt. Nur für einzelne Versuche wurden Tiere des Stammes C 57 black und Fawn verwendet**.

Für die rein morphologischen Untersuchungen wurden die Organstücke in Formol fixiert, in Paraffin eingebettet, 10 μ dick geschnitten und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Der histochemische Nachweis von Fett erfolgte an Gefrierschnitten nach Formolfixation mit Sudan III (Färbevorschrift Romeis[11], § 1048). Der histochemische Nachweis der alkalischen Phosphatase wurde nach Fixierung in gekühltem 80%igem Äthylalkohol an Paraffinschnitten vorgenommen. Die Reaktion selbst erfolgte in der von Gomori[12] angegebenen Weise mit geringfügigen Modifikationen. Für die histochemische Lokalisation der sauren Phosphatase wurde zuerst die von Wolf, Kabat u. Newman[13] gegebene Vorschrift benutzt. Da diese aber, wie allgemein bekannt, zu ungleichmäßigen und nicht reproduzierbaren

* Die Anregung zu diesen Versuchen ging von der Chininfabrik Braunschweig, Buchler & Co., aus, die freundlicherweise auch die Präparate zur Verfügung stellte und die Arbeit förderte. Beide Autoren danken darüber hinaus der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für die ihnen auf ihrem Arbeitsgebiet zuteil gewordene Unterstützung.

** Für die freundliche Überlassung von Zuchttieren danken wir Herrn Prof. Dr. Kröning, Medizinische Forschungsanstalt der Max Planck-Gesellschaft in Göttingen.

Reaktionsergebnissen führt, entwickelte der eine von uns[14] eine verbesserte Methode, die diese Mängel nicht mehr aufweist. Ein Teil der Schnitte wurde bereits nach diesem Verfahren bearbeitet.

Um die Dosierung des Thoriums X wenigstens ungefähr auf die klinischen Verhältnisse übertragen zu können, applizierten wir für die morphologischen Untersuchungen stets das Vielfache einer sogenannten „Normaldosis". Diese „Normaldosis" (ND) entspricht 2 wöchentlichen Injektionen von je 200 e.s.E. Thorium X* pro Patient. Wenn man 50 kg Körpergewicht als Minimum zugrunde legt, ergibt das 4 e.s.E./kg oder 0,08 e.s.E. pro 20 g Maus. Wir untersuchten die Auswirkungen der 1-, 10-, 50- und 100fachen ND. Von kurzfristigen Versuchen abgesehen, wurden den Mäusen jeweils 10 subcutane Injektionen, verteilt über 5 Wochen, verabfolgt. Die Dosierung von BAL** bei den Mäusen entsprach mit 3 mal täglich 5 mg/kg in 0,1 cm^3 Olivenöl der oberen Grenze der Norm. Nach subcutaner Injektion von BAL in öliger Lösung bilden sich bei Mäusen im subcutanen Bindegewebe Depots, aus denen, wie schon der charakteristische Geruch zeigt, nicht alles BAL resorbiert wird. Nach dieser Erfahrung injizierten wir den Mäusen das BAL intraperitoneal.

Die Zählrohruntersuchungen wurden nach entsprechenden Vorversuchen wegen der günstigeren Größenverhältnisse an 18 männlichen und weiblichen Kaninchen von 2,5—2,8 kg Gewicht durchgeführt. Die eine Hälfte der Tiere erhielt nur Thorium X, die andere Thorium X und BAL. Dabei wurde eine 80fache ND (800 e.s.E. für ein Kaninchen von 2,5 kg), die sich als meßtechnisch günstig erwiesen hatte, gewählt. Die tägliche BAL-Dosis betrug 3 mal 10 mg/kg. Das Thorium X wurde den Kaninchen in die Ohrvene gespritzt, das BAL, beginnend gleichzeitig mit der Verabfolgung des Thoriums X, 3 mal täglich bis zur Tötung des Tieres in die Oberschenkelmuskulatur. Die Tötung der Tiere erfolgte durch Nackenschlag.

Einzelheiten zur Methodik der Zählrohruntersuchungen werden in Abschnitt III besprochen.

II. Ergebnisse der morphologischen Untersuchungen.

a) Kontrolltiere.

Mit Hämatoxylin-Eosin gefärbte Präparate der Leber zeigten regelrechten Läppchenbau und klare Bälkchenstruktur. Bei allen untersuchten Tieren traten vereinzelte kleinzellige Infiltrate auf. Im Cytoplasma der Leberzellen waren hier und da kleine Vakuolen zu beobachten (vgl. Abb. 1a).

Fettnachweis. In allen untersuchten Lebern fanden sich sehr feine und manchmal auch mittelgroße Fetttröpfchen in den Parenchymzellen. Die Peripherie und das Zentrum des Läppchens waren gleichmäßig betroffen. Die individuellen Schwankungen in Menge und Größe der Fetttröpfchen waren recht beträchtlich.

Alkalische Phosphatase. Bei Lupenvergrößerung war in den Leberläppchen eine etwas höhere Fermentaktivität um die Zentralvenen herum zu beobachten. Die Leberzellen selbst waren viel ärmer an alkalischer Phosphatase. Ihre Zellkerne erschienen dunkler. Inter-

* Thorium X wurde in Form von Ixthor „Buchler" verabfolgt.

** Wir benutzten das Präparat „Sulfactin-Homburg" des Chemie-Werkes Homburg A.-G.

celluläre Gallengänge waren nach normaler Fixation fast nie zu beobachten. Die höchste Aktivität der alkalischen Phosphatase war in den Wänden der Sinusoide lokalisiert. In den erwähnten kleinzelligen Infiltraten war die Fermentaktivität weit geringer als in den Leberzellen (vgl. Abb. 2a).

Saure Phosphatase. Das Ferment war ziemlich gleichmäßig in den Leberläppchen verteilt. Die Zellkerne waren stärker, das Cytoplasma war mäßig schwarz gefärbt. Die Wände der Sinusoide waren, im Gegensatz zur alkalischen Phosphatase, fermentfrei.

b) Verabreichung von Thorium X in therapeutischer Dosis.

Nach 10maliger subcutaner Injektion von jeweils 0,08 e. s. E. Thorium X/20 g Maus (einfache „Normaldosis") über 5 Wochen zeigten sich mit den oben aufgeführten Methoden keinerlei sichere Veränderungen des histologischen und cytologischen Aufbaues der Leber gegenüber den Kontrolltieren.

Auch in anderen untersuchten Organen (Niere, Milz, Darm) waren nach Hämatoxylin-Eosin-Färbung keine Veränderungen zu beobachten.

c) Verabreichung von Thorium X in übersteigerter Dosis.

In Vorversuchen wurde das Verhalten der Mäuse nach fortgesetzter Zufuhr hoher Dosen Thorium X und die ungefähre letale Dosis bestimmt: Kontrolltiere sowie Mäuse mit einfacher ND (je 4 Tiere) überlebten den ganzen Versuchszeitraum (3½ Monate) ohne äußerlich sichtbare Veränderungen. Bei 10facher ND bekamen die Tiere nach einigen Wochen ein rauhes Fell und erschienen weniger lebhaft, überlebten aber alle. Die 100fache ND führte gleiche Veränderungen schon nach einigen Tagen und viel ausgeprägter herbei. Nach einer Woche sahen die Tiere sehr elend aus und bewegten sich steif und schwerfällig. Zum Teil vereiterten die Bindehäute der Augen. Die Tiere glichen solchen, die eine Röntgenbestrahlung mit letaler Dosis erhalten hatten. Zwischen dem 9. und 12. Tag nach der ersten Injektion kam es zum exitus.

10fache Normaldosis:

Hämatoxylin-Eosin-Präparate: Als auffälligste Veränderung trat eine Schwellung der Leberzellen in Erscheinung, die zum Teil die Bälkchenstruktur verwischte und die Sinusoide zusammendrängte. Diese Veränderung war um die Zentralvenen herum ziemlich regelmäßig zu finden. Die weiter peripher gelegenen Teile der Leberläppchen zeigten häufig noch die normale Struktur (vgl. Abb. 1b).

Fettnachweis. Bei individuellen Verschiedenheiten war die Zahl und Größe der Fetttröpfchen im ganzen nur wenig vermehrt. Über die Verteilung des Fettes im Leberläppchen war kein eindeutiges Bild zu

gewinnen. Bei einigen Präparaten schienen die Fetttröpfchen im Zentrum des Läppchens, bei anderen in der Peripherie, zu überwiegen.

Alkalische Phosphatase. Die Phosphataseaktivität war im ganzen geringer als bei den Kontrollpräparaten. Während in der Peripherie

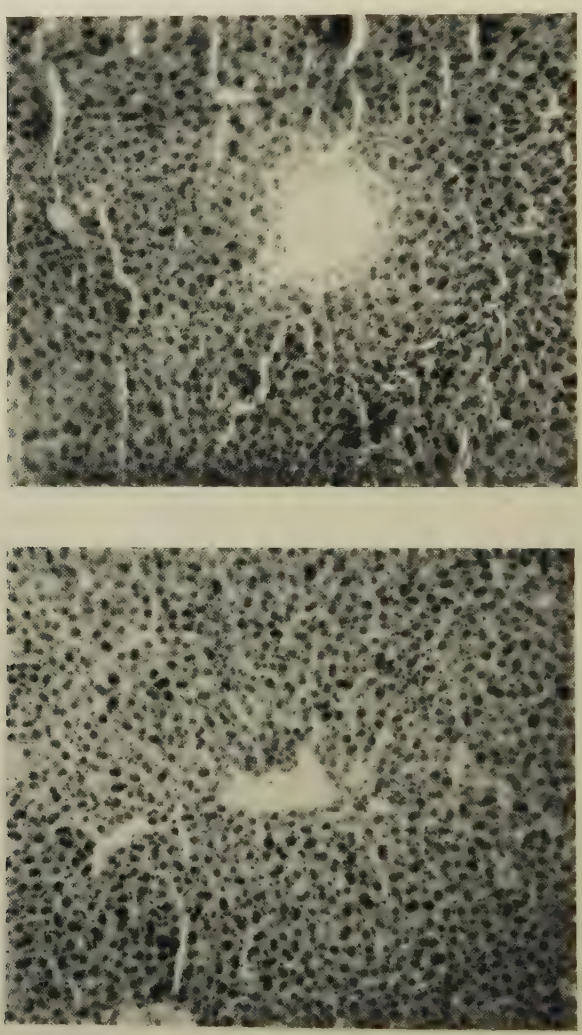


Abb. 1 *a* und *b*. Gegenüberstellung von Hämatoxylin-Eosin-Präparaten der Leber eines Kontrolltieres (*a*) und einer Maus, der 5 Wochen lang 40 e.s.E. Thorium X/kg 2mal wöchentlich (10fache ND) injiziert wurde. Während bei dem Kontrolltier die Leberbälkchen aus gleich großen und gleichgefärbten Zellen aufgebaut sind, kommt es bei dem behandelten Tier zur Zellvergrößerung bei gleichzeitig herabgesetzter Anfärbbarkeit im Zentrum des Läppchens. Um die Zentralvene herum liegt ein Wall besonders großer, heller Zellen.

des Leberläppchens die Zellen noch normalen Fermentgehalt besaßen. zeigten sie um die Zentralvene herum eine merklich schwächere Reaktion. Am geringsten war die Aktivität der stärker geschwollenen Zellen (vgl. Abb. 2b).

Saure Phosphatase. Die Präparate erschienen im ganzen dunkler als die der Kontrolltiere. Wie bei der Reaktion auf alkalische Phosphatase

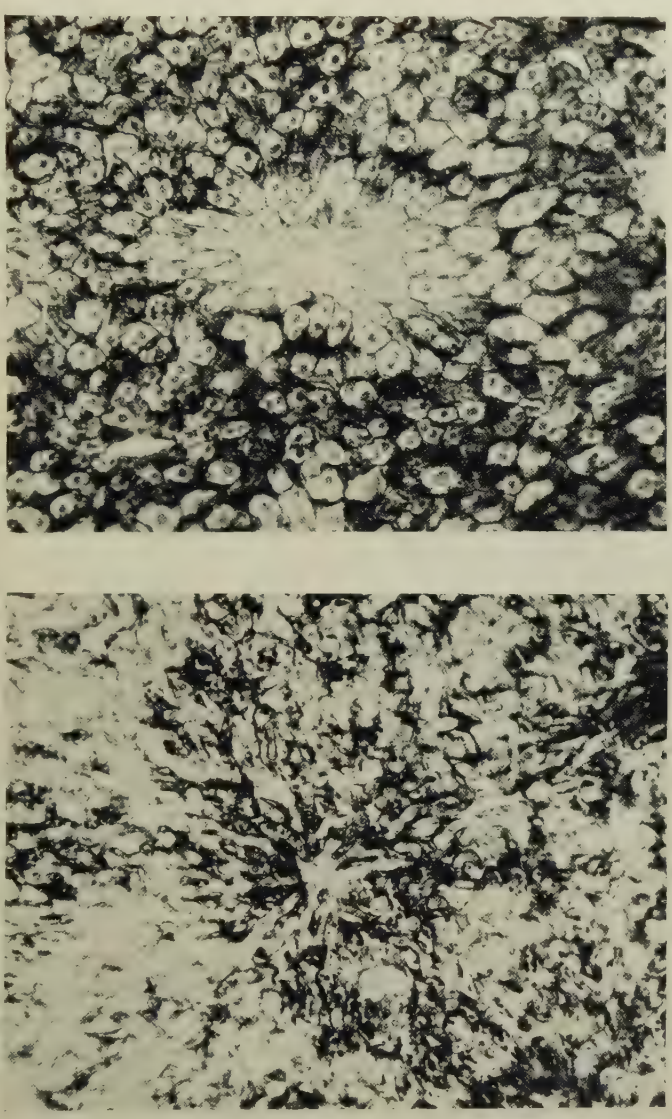
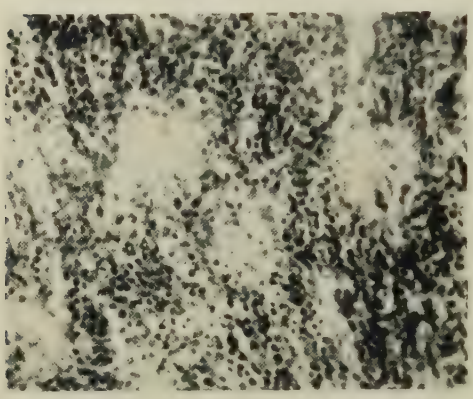


Abb. 2 *a* und *b*. Gegenüberstellung von Leberpräparaten, an denen der histochemische Nachweis der alkalischen Gewebsphosphatase durchgeführt wurde. (*a*) Normale Maus. (*b*) Leber einer 5 Wochen lang 2mal wöchentlich mit der 100fachen therapeutischen Dosis (400 e.s.E. Thorium X/kg) behandelten Maus. Während bei dem Kontrolltier die Aktivität in den Wänden der Sinusoide hauptsächlich im Zentrum des Leberläppchens lokalisiert ist, findet man in den vergrößerten Zellen im Zentrum des Läppchens der geschädigten Leber fast gar keine alkalische Phosphatase mehr.

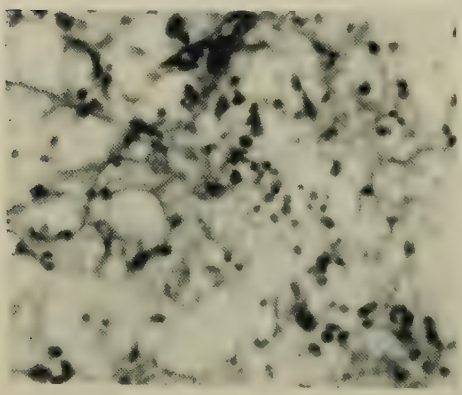
war in den meisten Leberläppchen das Zentrum heller als die Peripherie. Auch hier zeigten die stärker geschwollenen Zellen die schwächste Reaktion.

50fache Normaldosis:

Hämatoxylin-Eosin-Präparate: Die Schwellung der Zellen hatte zugenommen. Besonders um die Zentralvenen lagen große, geradezu epitheloide Zellen. Auch im peripheren Teil der Läppchen fanden sich vergrößerte Zellen. Im Cytoplasma waren oft größere Vacuolen zu beobachten



a



b

Abb. 3 *a* und *b*. Hämatoxylin-Eosin-Schnitte durch das Sternalmark gesunder (*a*) und durch Thorium X-Injektionen geschädigter Mäuse (*b*). Letztere erhielten über 5 Wochen 2mal wöchentlich die 10fache therapeutische Dosis Thorium X (40 e.s.E./kg). Die große Zahl der hämatopoetischen Zellen im Mark des gesunden Tieres ist bei dem mit Thorium X behandelten fast völlig verschwunden (Vergrößerung: 100fach).

Fettnachweis. In einzelnen Zellen oder Zellgruppen, vorwiegend in der Peripherie des Läppchens, waren zahlreiche mittelgroße und vereinzelte große Fetttropfen zu sehen.

Alkalische Phosphatase. Die Präparate waren heller als die Kontrollpräparate. Die Zahl der geschwollenen Zellen, in denen die Fermentreaktion praktisch ausblieb, hatte auch in der Läppchenperipherie zugenommen.

Saure Phosphatase. Der Ausfall der Reaktion entsprach dem nach 10facher ND beobachteten Befund.

Eine Versuchsreihe, bei der die Tiere bereits 7 Tage nach zweimaliger Injektion der 50fachen ND getötet wurden, zeigte, daß sich entsprechende Veränderungen bereits kurze Zeit nach Beginn der Thorium X-Applikation einstellen.

Außer der Leber untersuchten wir auch die Niere, die Milz, das Ileum und das Sternalmark, hier allerdings vorwiegend an Hämatoxylin-Eosin-Präparaten: Besonders ausgeprägt und wohl auch für den Verlauf von Thorium X-Schäden von großer Bedeutung waren die Veränderungen, die sich an den Blutbildungsstätten abspielten. Während das Sternalmark (es wurde das ganze Sternum flach geschnitten) bei

Kontrolltieren mit leukopoetischen Zellen angefüllt ist (Abb. 3a) und der Anteil der reifen Zellen hoch war, war die Blutbildung im Sternalmark nach 10- und 50facher ND praktisch erloschen. Nur vereinzelt fanden sich noch junge Formen leukoblastischer Zellen in den Netzmaschen des lockeren Bindegewebes (Abb. 3b). Eindeutige Veränderungen sahen wir sonst nur noch in der Niere. Hier waren nach 50facher und angedeutet schon nach 10facher ND Auflockerung des Cytoplasmas der Hauptstücke, das Entstehen einer großen Zahl von Kuppenbläschen, eine Erhöhung des Fettgehaltes vor allem der Hauptstückzellen und eine Erweiterung einzelner Kanälchen zu beobachten. In einem Falle fand sich in der Nierenrinde ein nekrotischer Bezirk.

Erwähnenswert scheint uns, daß im Ileum in keinem der untersuchten Fälle Zeichen einer Entzündung oder anderer Veränderungen gefunden wurden.

d) Verabreichung von Thorium X und BAL.

Vorversuche zur Prüfung der Wirkung von BAL allein und von dem als Vehiculum dienenden Olivenöl wurden vorausgeschickt: Einer Gruppe von 4 Mäusen wurde 5 Wochen lang 3mal täglich 0,1 cm^3 Olivenöl und einer zweiten Gruppe 5 mg/kg BAL in der gleichen Menge Olivenöl intraperitoneal injiziert. Die Auswertung der von diesen Tieren hergestellten Präparate ließ Veränderungen in der Leber erkennen. Die Hämatoxylin-Eosin-Präparate zeigten eine erhöhte Zahl von Vakuolen. Der Fettnachweis bestätigte, daß trotz individueller Abweichungen die Zahl der Zellen mit mittelgroßen und großen Fetttröpfchen eindeutig vermehrt war. Die Reaktion auf alkalische Phosphatase lieferte einen neuen Befund: Einzelne Leberzellen, oft aber auch kleine Gruppen von ihnen, hoben sich durch eine deutlich stärkere Reaktion in ihrem Cytoplasma von den helleren Zellen der Umgebung ab.

Während bei diesen Kontrollversuchen sowie bei den vorher geschilderten Thorium X-Versuchen mit 50facher ND alle Tiere am Leben blieben, starben bei der kombinierten Anwendung von BAL und Thorium X von 10 Mäusen 4 gegen Ende der Versuchszeit. Die Untersuchung nach dieser kombinierten Behandlung ließ weder vom histologischen noch vom histochemischen Standpunkt aus eine Verminderung der Leberveränderungen erkennen. Die Hämatoxylin-Eosin-Präparate glichen weitgehend denen nach entsprechender Dosierung von Thorium X allein. Die Zahl und Größe der Fetttröpfchen war vermehrt. Von einer regelrechten fettigen Degeneration einzelner Leberzellen konnte jedoch nur in einem Falle gesprochen werden. Eine Zahl ungewöhnlich fermentreicher Zellen, wie schon in den Kontrollpräparaten mit BAL allein beschrieben, war zu beobachten. In einem Falle wurde neben einer gestauten Lebervene ein größerer Nekrosebezirk gefunden.

Auch die Präparate der anderen untersuchten Organe zeigten nach der kombinierten Thorium X/BAL-Behandlung das gleiche Bild wie nach Thorium X allein.

III. Physikalische Untersuchungen.

Bei den physikalischen Untersuchungen sollte die Frage geklärt werden, ob durch die Verabfolgung von BAL die Ausscheidung des in vivo entstehenden Thorium B, das sich in einigen Organen beträchtlich anreichert, beschleunigt werden kann.

Methodisch wurde dabei in prinzipiell gleicher Weise vorgegangen wie bei früheren Untersuchungen[5], indem die Änderung der Radioaktivität in den einzelnen Organen über einen längeren Zeitraum nach der Tötung des Versuchstieres beobachtet wurde. Lag in einem Organ keine Abweichung vom radioaktiven Gleichgewicht durch Verlagerung von Folgeprodukten vor, so zerfallen von Thorium X und Thorium B immer gleichviel Atome pro Zeiteinheit, und damit gehorcht der

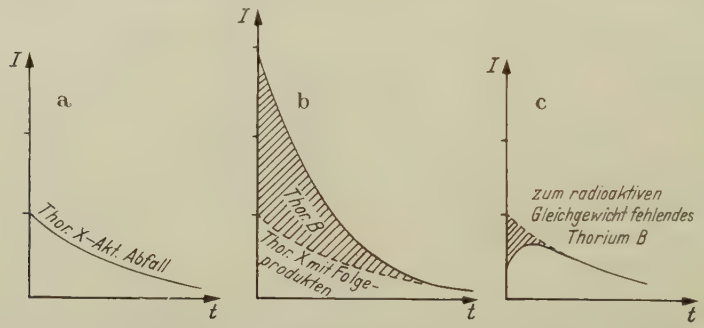


Abb. 4. Schematische Darstellung des Aktivitätsabfalles in den Organen nach der Tötung eines Versuchstieres. Auf der Abszisse die Zeit nach dem Tode, auf der Ordinate die Aktivität J (gezählte β-Teilchen/min). Erläuterung im Text.

Aktivitätsabfall der Zerfallsfunktion des Thoriums X (Abb. 4a). War in dem betreffenden Organ jedoch Thorium B gegenüber Thorium X angereichert, so ist der Aktivitätsabfall zunächst viel steiler, weil das kurzlebigere Thorium B rascher zerfällt (Abb. 4b). Ist umgekehrt aus einem Organ über den Kreislauf Thorium B abgeführt worden, so muß dieses — zum radioaktiven Gleichgewicht fehlende — Thorium B erst nachgebildet werden und es kommt zu einem Verlauf, wie es schematisch Abb. 4c zeigt.

Die Aktivitätsmessungen erfolgten mit einem Glockenzählrohr* (Fenster-Zählrohr) durch Zählung der β-Teilchen. Die in der Zerfallsreihe des Thorium X auftretenden β-Strahler sind Thorium B, Thorium C (zerfällt zu 65% als β-Strahler) und Thorium C″. Von diesen ist Thorium B mit einer maximalen Zerfallsenergie von 0,36 MeV der schwächste, Thorium C mit 2,2 MeV der stärkste der beteiligten β-Strahler. Durch absorbierende Folien läßt es sich erreichen, daß nur β-Teilchen des Thorium C und Thorium C″ (maximale Zerfallsenergie 1,8 MeV) in das Zählrohr eintreten. Thorium C und Thorium C″ dienen dann als Indicator für die vorangehenden Muttersubstanzen.

* Glockenzählrohr der Zentral-Werkstatt Göttingen.

Als Maß der relativen Thorium B-Verlagerung wurde das Verhältnis der angereicherten Thorium B-Atome zur Zahl der Thorium X-Atome in den untersuchten Organen ermittelt. Dieser mit Q* bezeichnete Quotient gilt für den Moment der Tötung des Versuchstieres; zu seiner Bestimmung entsprechend Abb. 4b ist es daher erforderlich, die Messungen möglichst rasch nach der Tötung zu beginnen. Zu diesem Zwecke wurden Gewebsproben ohne vorherige Wägung anverascht, um ihr Volumen einzuengen (beim Harn wurde die Flüssigkeit verdampft) und dann die Zählungen mit dem Geiger-Müller-Rohr begonnen.

Die Gewebsreste wurden dazu in kleine runde Tiegel gebracht, die mit einer Glimmerfolie abgedeckt wurden, um ein Entweichen von Thorium-Emanation zu verhindern. Mit Hilfe der fortlaufend unter Wahrung der geometrischen Verhältnisse durchgeführten Zählungen wurden die Aktivitätsänderungen in Abhängigkeit von der Zeit erfaßt.

Die stärkste relative Thorium B-Anreicherung wurde bei früheren Versuchen in der Leber gefunden, wobei das Maximum für Q zwischen dem 3. und 4. Tag nach der Injektion des Thoriums X lag[5]. Bei den Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit wurden die Tiere daher 4 Tage nach der Injektion getötet.

Gleichzeitig wurden abgewogene Gewebsmengen völlig verascht, um Präparate zu erhalten, die eine quantitative Aktivitätsbestimmung pro Gramm Gewebe erlauben.

Die mit dieser Methode durchgeführten Messungen ergaben für die Leber, daß das Verhältnis von angereichertem Thorium B zu Thorium X (= Q) individuellen Schwankungen unterlag; ähnliche Schwankungen für Q beim Blut verliefen im allgemeinen gleichsinnig, d. h. relativ hohem Q-Wert in der Leber entsprach beim gleichen Tier hoher Q-Wert im Blut; entsprechend umgekehrt war es bei kleinem Q. Die Q-Werte für die Leber lagen um 80, die für das Blut um 60 (Tabelle); dies stimmt gut mit den Ergebnissen früherer Untersuchungen überein[5]. Bei einem hier nicht mitgewerteten Tier fand sich ein Tumor in einer Niere (Hypernephrom). Die Thorium X-Aufnahme in diesem Tumor war geringer als in allen sonst untersuchten Organen bei Q = 2.

Aus der Tabelle (die Zahlen stellen Mittelwerte dar) geht hervor, daß BAL keinen Einfluß auf die Thorium B-Aufnahme in der Leber hat; der kleine Unterschied der Q-Werte ist nicht signifikant. Ebenso wirkt BAL offenbar nicht auf den Thorium X-Stoffwechsel in diesem Organ ein. Auch bei den übrigen untersuchten Organen, Niere, Milz, Knochen und Blut, ferner im Urin, ließ sich keine Wirkung des BAL auf Thorium X oder Thorium B nachweisen.

* Das Verhältnis des in einem Organ angereicherten Thorium B zu dem darin befindlichen Thorium X (Q) entsprechend Abb. 4b läßt sich in verschiedener Weise ausdrücken, entweder als Quotient der durch die Strahlung ausgelösten Ionisationsströme (Gesamtionisation[5]) oder als Verhältnis der Teilchenzahlen von Thorium B und Thorium X. Im ersten Falle ist das Verhältnis kleiner. In der vorliegenden Arbeit wurde Q als Verhältnis der Teilchenzahlen bestimmt.

Als überraschender neuer Befund stellte sich bei diesen Untersuchungen heraus, daß außer dem Thorium B noch das in vivo entstehende Folgeprodukt Thorium C (= Wismut-Isotop) vom Organismus in meßbarem Ausmaß verlagert wird[15].

Tabelle 1.

		Nur Thorium X appliziert	Thorium X und BAL
Leber	Aktivität des Th X pro g Gewebe (gezählte β-Teilchen)	24,6	25,4
	Q	86	78
Niere	Aktivität des Th X pro g Gewebe . .	206	238
	Q	18,7	11,3
Knochen	Aktivität des Th X pro g Gewebe . .	6550	6100
Harn	Q	5,1	6,2
Gesamtblut	Q	64	58

Voraussetzung für die Möglichkeit solcher Transportvorgänge ist stets eine genügende Lebensdauer der betreffenden radioaktiven Folgeprodukte. Beim Thorium C beträgt die Halbwertszeit 60,5 min. Diese ist für Verlagerungen im Organismus ausreichend; allerdings werden durch die Kurzlebigkeit die Unter-

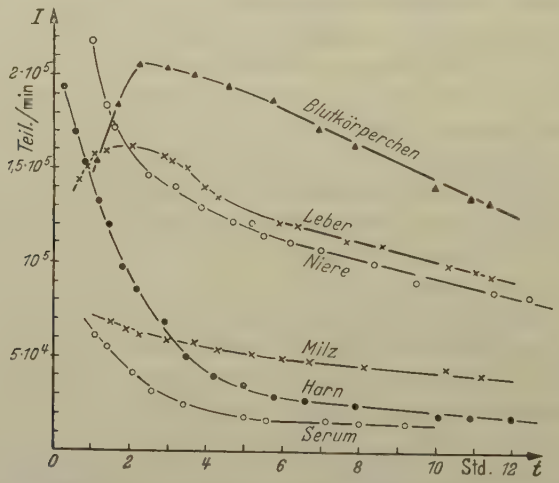


Abb. 5. Aktivität J (gezählte β-Teilchen/min) als Funktion der Zeit nach der Tötung des Versuchstieres (die Werte sind relative, also nicht auf Gewichtseinheit Gewebe bezogen).

suchungen meßtechnisch schwierig. — Der Nachweis der Thorium C-Verlagerung erfolgt prinzipiell in gleicher Weise wie der des Thoriums B, d. h. es wird die Änderung der Aktivität in den einzelnen Organen nach der Tötung des Versuchstieres untersucht. Infolge der kurzen Lebensdauer des Thoriums C erfolgen die Aktivitätsänderungen entsprechend rasch, so daß zunächst viele einander dicht

folgende Messungen erforderlich sind (siehe Abb. 5). Diese Messungen müssen möglichst schnell nach der Tötung beginnen, da die Zeitspanne, in der die durch Thorium C-Verlagerungen bedingten Aktivitätsänderungen sichtbar sind, nur wenige Stunden beträgt.

Die Thorium C-Verlagerungen wurden nur an einem Teil der Tiere der beiden Versuchsreihen eingehender untersucht. Dabei kam es zu folgenden Ergebnissen (Abb. 5 und 6): In der Leber stieg die Aktivität nach Tötung des Tieres zunächst an, um nach Erreichen eines Maximums durch das dem Thorium X aufgelagerte Thorium B relativ rasch abzufallen. Der gleiche Verlauf war bei den cellulären Bestandteilen des Blutes zu beobachten. In der Niere und im Serum war der Aktivitätsabfall dagegen zunächst sehr viel steiler als er durch angereichertes Thorium B bedingt sein könnte, ebenso im Urin. Die Milz zeigte demgegenüber keine solchen Abweichungen.

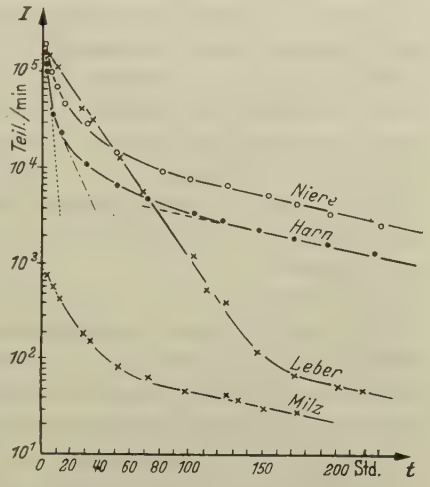


Abb. 6. Aktivität J (gezählte β-Teilchen/min) als Funktion der Zeit nach der Tötung; für die Ordinate logarithmischer Maßstab. Die Steigungen der angelegten Tangenten entsprechen den Zerfallsfunktionen von Thorium C (·····), Thorium B (·—·—·—·) und Thorium X (— — —). Die Aktivitätswerte sind relative, also nicht auf Gewichtseinheit Gewebe bezogen.

Die Analyse der kurvenmäßig dargestellten Aktivitätsverläufe erfolgt in der gleichen Weise, wie es Abb. 4b und 4c für die Thorium B-Verlagerung zeigen. Aus der Leber wurde das durch Thorium B-Zerfall entstandene Wismut-Isotop Thorium C während des Lebens ständig abtransportiert; nach der Tötung wurde es von dem angereicherten Thorium B zunächst nachgebildet (Aktivitätsanstieg in Abb. 5). Umgekehrt lag im Serum ein „Überschuß" an Thorium C vor; ebenso bestand in Niere und Harn eine relative Thorium C-Anreicherung. — Als Maß für die Intensität der relativen Thorium C-Abgabe aus der Leber kann die zeitliche Lage des Maximums der Aktivität benutzt werden. Isoliert man nämlich reines Thorium B, so steigt entsprechend der erst nach der Isolierung beginnenden Bildung der Folgeprodukte deren Aktivität an, um nach etwa 227 min ein Maximum zu erreichen. Der Organismus ist nicht imstande, aus der Leber sämtliches Thorium C abzuführen; entsprechend liegt das Maximum der Aktivität zeitlich früher als 227 min nach der Tötung. Das gleiche gilt für die cellulären Bestandteile des Blutes*.

* Es ist bei dieser Betrachtung nicht berücksichtigt, daß auch das Thorium X am Zustandekommen der Kurven von Abb. 5 beteiligt ist. Die Aktivitätsänderung des Thoriums X in dem dargestellten Zeitabschnitt ist jedoch so klein, daß diese für eine qualitative Untersuchung — wie hier — vernachlässigt werden kann.

Für den Verlauf des Aktivitätsabfalles im Harn ist die Zeitspanne zwischen Ausscheidung von der Niere in die Blase und Beginn der Messungen wesentlich. Bei prall gefüllter Blase, die viel „alten" Urin enthielt, war die Thorium C-Anreicherung im Harn entsprechend Abb. 6 daher scheinbar nur klein; dagegen war bei nur wenig gefüllter Blase, die kurz zuvor entleert wurde und daher frischen Harn enthielt, der Thorium C-Gehalt wesentlich größer. Die Kurve in Abb. 6 gibt den Aktivitätsabfall frischen Harns wieder und zeigt dementsprechend eine starke Thorium C-Anreicherung.

IV. Untersuchung der Beeinflussung der Strahlenresistenz durch BAL.

Wenn dem BAL eine Schutzwirkung auf die Leber bei Thorium X-„Vergiftung" zukäme, dann könnte diese einmal auf einer Senkung der Strahlendosis durch beschleunigte Ausscheidung, zum anderen aber auf einer Resistenzerhöhung gegen ionisierende Strahlen beruhen. Diese letztgenannte Möglichkeit sollte geprüft werden. Von den die Strahlenresistenz steigernden Substanzen ist bei Warmblütern das Cystein am wirksamsten[10, 16, 17, 18]. Mit diesem hat BAL den Besitz von SH-Gruppen gemeinsam, die für den Schutzeffekt verantwortlich sein sollen. Auch beim BAL eine derartige Wirkung zu erwarten, lag daher nahe.

Bei unseren Untersuchungen wurden 62 erbreine Mäuse mit letalen Dosen (600 und 800 r) bestrahlt (180 kV; 0,3 mm Cu + 1 mm Plexiglas; HWS 0,8 mm Cu; Dosisleistung 50 r/min)*. Die Hälfte der Tiere erhielt etwa eine halbe Stunde vor der Bestrahlung 10 mg/kg BAL intraperitoneal injiziert. Es zeigte sich, daß die Überlebensdauer der mit BAL behandelten Tiere nur unwesentlich größer war als die der Kontrolltiere.

Wir halten auf Grund dieser Ergebnisse eine geringe Erhöhung der Überlebensdauer nach letalen Röntgen-Dosen durch BAL für wahrscheinlich; doch reicht die Zahl unserer Versuchstiere nicht aus, dies als signifikant zu erklären.

V. Diskussion.

Nach 5 Wochen währender Zufuhr von Thorium X in normaler therapeutischer Dosis ließen sich bei Mäusen weder in der Leber noch in anderen Organen eindeutige morphologische Veränderungen beobachten. Auch die Ergebnisse der histochemischen Reaktionen auf alkalische und saure Leberphosphatase sowie der Fettnachweis mit Sudan III entsprachen dem normalen Befund. Das deckt sich mit den Resultaten, die Kny und Thies[7] nach längerer Zufuhr der etwa 1- bis 1½fachen ND Thorium X am Kaninchen aus der Beurteilung von Hämatoxylin-Eosin-Präparaten erhielten.

---

* Die Bestrahlungen der Mäuse wurden freundlicherweise von Herrn Dr. R. Sigmund, Institut für medizinische Physik, Göttingen, durchgeführt.

Mit der Durchführung histochemischer Reaktionen gehen unsere Untersuchungen über die von Kny und Thies hinaus. Die Bedeutung, die der Verfettung für die Funktion der Leberzellen zukommt, ist allgemein bekannt. Die histochemische Phosphatasereaktion als Test für eine Störung der Leberfunktion ist dagegen erst neuerdings eingeführt worden[19, 20]. Die Aktivität der alkalischen Leberphosphatase steht in engem Zusammenhang mit dem Spiegel der Serumphosphatase, die ihrerseits durch die Leberzellen hindurch in die Galle ausgeschieden wird[21]. Dieser Mechanismus macht es verständlich, daß der Phosphatasegehalt der Leber zum empfindlichen Indicator für krankhaftes Geschehen in diesem Organ wird: In den Leberzellen und in den Wänden der Sinusoide erhöht sich die Aktivität der alkalischen Phosphatase bei akuter Hepatitis, subacuter gelber Leberatrophie und generalisierten Knochenerkrankungen. Während jedoch die Gallenkapillaren bei diesen Erkrankungen phosphatasefrei bleiben, steigt deren Fermentaktivität bei Störung des Galleabflusses, etwa beim Verschlußikterus. Dies bedeutet, daß eine Leberzellschädigung in der Regel zugleich zu einer Erhöhung der alkalischen Phosphatase-Aktivität führt. Die Reaktion der sauren Phosphatase bei krankhafter oder experimenteller Schädigung der Leber ist noch zu wenig bekannt.

Erst nach stark übersteigerter Dosis von Thorium X fanden wir Veränderungen in den Lebern unserer Versuchstiere. Ihr wesentlichstes Merkmal war eine Schwellung der Parenchymzellen, die vom Zentrum des Leberläppchens in seine Peripherie hin fortschritt. Einen ganz ähnlichen Befund hatte u. a. Ariel[22] an der Kaninchenleber nach hohen Röntgen-Dosen erheben können. — Nach Thorium X-Verabfolgung blieb die Zunahme des Fettgehaltes in den Leberzellen gering. Auch die Veränderungen der Menge und der Lokalisation der Leberphosphatase waren uncharakteristisch. Eine Abnahme der Enzymaktivität entsprechend dem Grade der Schwellung war die Regel. Erst nach der Gabe von BAL, besonders bei kombinierter BAL/Thorium X-Applikation, war eine deutliche Zunahme des Fettgehaltes der Leberzellen und in einzelnen Zellen die für eine beginnende Nekrose charakteristische Aktivitätserhöhung der alkalischen Phosphatase zu beobachten. Man könnte diese Befunde so deuten, daß die Thorium X-Zufuhr allein in hohen Dosen zwar eine trübe Schwellung der Leberzellen hervorruft, daß aber Verfettung und irreversible Zelldegeneration mit Erhöhung der Phosphataseaktivität erst als eine Folge der BAL-Gabe auftreten. Auch das Eingehen einzelner Versuchstiere nach kombinierter Thorium X/BAL-Behandlung weist darauf hin, daß die BAL-Behandlung die Widerstandskraft des Organismus senkt.

In der Tat soll dem BAL eine toxische Wirkung zukommen. Wenn auch Graham[23] nach BAL-Gaben von 10 mg/kg pro die über 56 Tage und 50 mg/kg

pro die über 14 Tage bei jungen Ratten keine Schädigung der Leber und der Niere beobachten konnte, so fand Macnider[24] an Hunden eine fettige Degeneration der Leber schon dann, wenn er 20 mg/kg 2mal täglich über 4 Tage hin gab.

Die Zählrohruntersuchungen am Kaninchen ergaben, daß das BAL zu keiner merklichen Beschleunigung der Thorium B-Ausscheidung führte.

In der Literatur werden über das Ausmaß der BAL-Wirkung auf die Bleiausscheidung widersprechende Angaben gemacht. Am Kaninchen fand z. B. Lehmann eine deutliche Wirkung des BALs auf die Pb-Ausscheidung[25], während Adam[26] nur von geringem Effekt berichtet. Die Verteilung des Bleis im Organismus wurde nach dem letztgenannten Autor nicht sicher beeinflußt. Auch über die BAL-Wirkung auf die Blei-Eliminierung beim Menschen sind die klinischen Angaben nicht einheitlich[27, 28]. Darüber hinaus lagen bei unseren Versuchen die Verhältnisse gegenüber der Blei-Intoxikation noch insofern anders, als hier das zu eliminierende Thorium B durch Zerfall seiner Muttersubstanz ständig nachgeliefert wurde.

Ein Einfluß des BAL auf den Thorium X-Stoffwechsel war nicht zu erwarten, nachdem Weikel und Lorenz[9] festgestellt hatten, daß BAL auf die Radium-Ausscheidung ohne Einfluß bleibt. Gegen diese Versuche ließe sich allerdings einwenden, daß diese Autoren das BAL subcutan injizierten und dabei sicher nicht mit einer vollständigen Resorption des BAL rechnen konnten. Doch hatte BAL auch auf die Strontium-Ausscheidung keinen Einfluß[8]; Strontium und Radium sind in ihrem chemischen und biologischen Verhalten einander recht ähnlich[25].

Eine Beschleunigung der Thorium C-Ausscheidung durch BAL ließ sich wegen der geringen Zahl der darauf untersuchten Tiere nicht sicher nachweisen; doch scheint eine solche nach der Auswertung unserer bisherigen Versuche zu bestehen.

Für die therapeutische Anwendung des Thorium X ist der Befund, daß auch das in vivo entstehende Thorium C noch im Organismus verlagert wird, von praktischer Bedeutung. Eine exakte quantitative Analyse dieser Vorgänge ist außerordentlich schwierig. Doch geht hinsichtlich der qualitativen Verhältnisse folgendes aus unseren Befunden hervor: Die Muttersubstanz des Thorium C, das Thorium B, ist in hoher Konzentration an die cellulären Bestandteile des Blutes gebunden[5, 30]. Mit der Umwandlung in das Wismut-Isotop Thorium C erfolgt eine Abgabe der Radio-Atome von den Blutzellen an das Serum, in dem es dadurch zu einer relativen Thorium C-Anreicherung kommt. Eine Darstellung der Messungen über längere Zeit (Abb. 6) in semilogarithmischem Koordinatensystem zeigt für den Harn, daß die Ausscheidung der radioaktiven Substanz nach Verabfolgung von Thorium X zum geringsten Teil als Thorium X, zum größeren Teil als Thorium B und zum allergrößten Teil als Thorium C erfolgt. Der Aktivitätsverlauf in der Niere ist ähnlich wie im Harn und offenbar durch die bevorzugte Ausscheidung von Thorium B und Thorium C gegenüber Thorium X

bedingt. Von der Leber wird Thorium B, das hauptsächlich vom Skeletsystem geliefert wird, angereichert; das aus dem Thorium B entstehende Thorium C gibt die Leber jedoch zu beträchtlichem Teil wieder ab.

Durch diese Befunde bedürfen die Konsequenzen, die für die Strahlendosisverteilung nach Thorium X-Applikation gezogen werden, nunmehr einer Ergänzung. So wird z. B. in der Leber die Strahlendosis nicht in dem Maße erhöht, wie man vordem annehmen mußte[5, 31], da mit dem Thorium C und seinen Folgeprodukten die energiereichsten der beteiligten α-Strahler zum Teil aus dem Organ wieder herausgeführt werden. Andererseits wird in Geweben, die Thorium C anreichern, etwa in der Niere, die Strahlendosis höher, als man früher annehmen mußte. Die morphologischen Veränderungen, die wir bei hohen Thorium X-Dosen in diesem Organ beobachteten, mögen darin ihre Ursache haben. — Die dargestellten Befunde über die Thorium C-Verlagerungen decken sich mit denen früherer Indicator-Untersuchungen zum Stoffwechsel des Wismuts[32, 33, 34].

Daß die Thorium C-Verlagerungen, die ja doch ein beträchtliches Ausmaß erreichen, vordem nie beobachtet wurden, liegt daran, daß frühere Untersucher die Aktivität entweder durch Messung der Gesamt-Ionisation oder durch Zählung der γ-Quanten bestimmten. Im letzten Fall wird in erster Linie die γ-Komponente vom Zerfall des Thorium B erfaßt. Auf diese Weise kann man Thorium B-Verlagerungen sehr bequem bestimmen und die Anreicherung des Blei-Isotopes in der Leber auch in vivo nachweisen[5, 31]. Doch entgehen dem Untersucher dabei naturgemäß Verlagerungen der Folgeprodukte. Da wir jedoch die β-Teilchen von Thorium C und Thorium C″ zählten, konnten wir die Verlagerung des Thoriums C gegenüber seiner Muttersubstanz erfassen. — Die an sich schon recht schwierige Strahlendosisbestimmung bei α-Strahlern wird für das Thorium X durch diese neuen Befunde noch komplizierter.

Nach sehr hohen Thorium X-Dosen konnten wir in der Niere Abweichungen vom normalen histologischen Bild beobachten. Dagegen deutete nichts auf eine krankhafte Veränderung im Darm. Diese Befunde lassen sich jedoch nicht auf den Menschen übertragen, weil bei diesem (wie übrigens auch beim Hund) die Thorium X-Ausscheidung durch den Darm vor der durch die Niere überwiegt[35]. Beim Menschen sind nach starker Überdosierung von Thorium X Durchfälle und Enteritiden beschrieben worden[36, 37]. Veränderungen im weißen Blutbild, wie wir sie in Sternalmarkpräparaten beobachten konnten, sind bei hohen Dosen auch für den Menschen bekannt[38, 39]. Die starke Anreicherung des Thorium X im Knochen führt zugleich zu einer Erhöhung der Strahlendosis in den angrenzenden Bereichen des Knochenmarkes. So werden die starken Reaktionen des hämatopoetischen Systems verständlich. Die Folgen eines Stillstandes der Leukopoese sind gut bekannt. Sie entsprechen dem, was wir bei hohen Thorium X-Dosen an unseren Mäusen beobachten konnten. Wir neigen daher zu der Ansicht, daß der Tod

bei Thorium X-Überdosierung weniger durch die Leberveränderung als durch die Agranulocytose herbeigeführt wurde. Auf diese bleibt jedoch BAL, da es die Verteilung des Thorium X nicht beeinflußt, sicher ohne Wirkung.

Wir fanden keine signifikante Erhöhung der Strahlenresistenz durch BAL. Andere Autoren erzielten an Mäusen kaum günstigere Ergebnisse[40, 41]. Im Gegensatz dazu stehen die Befunde nach Bestrahlung von Escherichia Coli-Kulturen; dabei steigerte BAL die Strahlenresistenz noch mehr als Cystein[42].

So reicht also auch die Strahlenresistenzsteigerung durch BAL nicht aus, eine therapeutische Kombination mit Thorium X zu rechtfertigen.

Zusammenfassung.

Eine 5 Wochen dauernde Zufuhr von Thorium X in einer der therapeutischen Anwendung entsprechenden Dosierung führt bei Mäusen weder in der Leber, noch in anderen Organen zu morphologisch faßbaren Veränderungen. Ebensowenig sind Abweichungen von der normalen Menge und Lokalisation sudanophiler Substanzen und der „alkalischen" und „sauren" Phosphatase der Leber nachzuweisen. Erst nach überhöhten Thorium X-Gaben treten pathologische Veränderungen in Leber, Knochenmark und Niere auf.

Durch gleichzeitige Verabfolgung von Thorium X und BAL lassen sich Ausscheidung und Verteilung des in vivo entstehenden Thorium B beim Kaninchen nicht beeinflussen. Auch das Auftreten der beschriebenen Organschäden kann dadurch nicht verhindert werden. — Die Steigerung der Resistenz gegen Röntgenstrahlen durch BAL ist bei Mäusen nur gering. Eine therapeutische Kombination von BAL und Thorium X ist daher nicht zu empfehlen.

Ferner wurde festgestellt, daß außer dem Thorium B auch das in vivo entstehende Thorium C gegenüber seiner Muttersubstanz verlagert wird. Dieser Befund hat eine praktische Bedeutung für die Beurteilung der Strahlendosisverteilung nach Thorium X-Verabreichung.

Literatur.

[1] Troch, P.: Peteosthor. Braunschweig 1949. — [2] Schubert, J.: Nucleonics 8, No. 2, 13 (1951). — [3] Parker, H. M.: Radiology 54, 257 (1951). — [4] Bachmann, R., E. Harbers u. K. H. Neumann: Verhandlg. d. Anatom. Ges. auf der 48. Versammlg. in Kiel 1950 (Sonderbd. d. Anatom. Anzeigers). — [5] Harbers, E.: Strahlenther. 82, 569 (1950). — [6] Wolf, P. M., H. J. Born u. A. Catch: Strahlenther. 73, 509 (1943). — [7] Kny, W., u. O. Thies: Therapie der Gegenwart, S. 14, 1951. — [8] Kisieliski, W. E., W. P. Norris and L. A. Woodruff: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 77, 694 (1951). — [9] Weikel, J., and E. Lorenz: Radiology 51, 865 (1948). — [10] Patt, H. M.: Science (Lancaster, Pa.) 110, 213 (1949). — [11] Romeis, B.: Mikroskopische Technik, 15. Aufl. München 1948. — [12] Gomori, G.:

Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **42**, 23 (1939). - [13] Wolf, A., E. Kabat and W. Newman: Amer. J. Path. **19**, 423 (1943). — [14] Neumann, K.: Z. wiss. Mikroskopie **60**, 449 (1952). - [15] Harbers, E.: Z. Naturforschg **7b** 363, (1952) — [16] Hall, V. B.: Cancer Res. **11**, 254 (1951). — [17] Hornykiewytsch, Th.: Strahlenther. **86**, 175 (1952). — [18] Langendorf, H.: Strahlenther. **85**, 391 (1951). — [19] Kritzler, R. A., and J. Beaubien: Amer. J. Path. **25**, 1079 (1949). — [20] Sherlock, S., and V. Walshe: J. of Path. Bact. **59**, 615 (1947). — [21] le Veen, H. H., L. J. Talbot, M. Rustuccia and J. Barberio: J. Labor. a. Clin. Med. **36**, 192 (1950). — [22] Ariel, J. M.: Radiology **57**, 561 (1951). — [23] Graham, J. D. P.: Biochemic. J. **43**, proc. XXXII (1948). - [24] MacNider, W. de B.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **66**, 444 (1947). — [25] Lehmann, M.: J. Ind. Hyg. Toxilog. **31**, 301 (1949). - [26] Adam, K. R.: Brit. J. Pharmacol. **4**, 351 (1949). — [27] Ryder, H., Cholak and Kehoe: Science (Lancaster, Pa.) **106**, 63 (1947). — [28] Stocken, L. A., and R. H. S. Thompson: Physiologic. Rev. **29**, 168 (1949). — [29] Norris, W. P., and W. Kisieleski: Cold Spring Harbour Symposia **XIII**, 164 (1948). — [30] Wolf, P. M., H. J. Born u. A. Catch: Strahlenther. **74**, 360 (1944). — [31] Moser, H., u. E. Schoen: Strahlenther. **86**, 589 (1952). — [32] Christiansen, I. A., G. v. Hevesy et S. Lomholt: Compt. rend. **178**, 1324 (1924). — [33] v. Hevesy, G.: Biochem. Z. **173**, 175 (1926). — [34] v. Hevesy, G.: Radioactive Indicators. New York a. London 1948. — [35] Brill, O., A. Kriser u. L. Zehner: Strahlenther. **1**, 348 (1912). — [36] Gudzent, F.: Münch. med. Wschr. **59**, 1176 (1912). — [37] Plesch, J.: Berl. klin. Wschr. **1919**, Nr. **16**. — [38] Hirschfeld, A., u. S. Meidner: Münch. med. Wschr. **60**, 1674 (1913). — [39] Arneth, S.: Münch. med. Wschr. **60**, 994 (1913). — [40] Bacq, Z. M., A. Herve, J. Lecomte and P. Fischer: Science (Lancaster, Pa.) **111**, 356 (1950). — [41] Works, L., J. H. Grotts and G. W. Raleigh: Quart. Bull. Northw. Univ. Med. School **24**, 295 (1950). — [42] Burnett, W. T., G. E. Stapleton, M. L. Morse und A. Hollaender: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **77**, 636 (1951).

Dr. Karlheinz Neumann, Göttingen, Anatomisches Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 82—90 (1953).

Technik der Elektronystagmographie zur Analyse des vestibulären Drehnystagmus beim Tier.

(Pharmakologische Prüfung der Wirksamkeit von Antihistaminica-Chlortheophyllin-Verbindungen.)

Von

MARCEL MONNIER und H. LAUE.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. Juni 1952.)

Zwischen der elektropositiven Cornea und der elektronegativen Hinterwand des Bulbus besteht ein starkes Potential, das nicht nur am Auge selbst, sondern auch aus seiner Umgebung abgeleitet werden kann. Die Achse dieses polarisierten Systems ist mit der optischen identisch, so daß bei jeder Augenbewegung die Verteilung der Potentiale auf die Augenumgebung sich in bestimmter Gesetzmäßigkeit ändert. Aus den registrierten Potentialänderungen lassen sich also Schlüsse über die Änderung der Augenstellung ziehen. In diesem Sinne wurde von MONNIER und Hufschmidt (1950, 1951) eine verbesserte Technik der Elektrookulographie (EOG) entwickelt. Diese Methode hat sich nicht nur klinisch beim Menschen, sondern auch als Untersuchungsmethode in der Tierphysiologie bewährt. Sie eignet sich besonders auch zur Analyse des vestibulären Drehnystagmus beim Kaninchen.

In dieser Mitteilung sollen nun die Ergebnisse unserer früheren Versuche über den vestibulären Drehnystagmus (MONTANDON und MONNIER, 1951; MONTANDON, MONNIER, CROCI und BRUNNER, 1952; MONNIER und LAUE, 1952) durch solche aus weiteren systematischen Untersuchungen ergänzt werden.

Methodik.

Eine Holzscheibe von etwa 1,5 m Durchmesser dient zur Aufnahme des Kaninchenstativs und der Registrierapparate (Abb. 1a). Die Scheibe ist auf einer Achse gelagert und ermöglicht eine gleichmäßige Drehbeschleunigung des Tieres. Das Kaninchen ist in möglichst physiologischer Haltung in einem Gestell befestigt. Der Kopf ist so fixiert, daß einmal der Nacken von einem Bügel gefaßt ist und zum anderen die Schnauze des Tieres von einem Metallring. Seitwärtsbewegungen des Kopfes werden durch jederseitige Backenpuffer vermieden. Um den Einfluß der Zentrifugalkraft auf ein geringstmögliches Maß zu reduzieren, befindet sich der Kopf im Zentrum der Scheibe. Die Mundspalte liegt unterhalb der Horizontalen in einem Winkel von 45°.

Zur Ableitung verwenden wir unpolarisierbare, chlorierte Silberelektroden von etwa 0,5 cm Durchmesser, von denen eine nahe des unteren, vorderen Randes und eine andere am oberen, hinteren Rand der Orbita mittels Kollodium an der Haut

befestigt werden (Abb. 1b). Eine weitere Elektrode wird am Vertex zur Erdung des Tieres angeklebt und zur gleichzeitigen Registrierung des EKG eine Elektrode an der rechten Ohrbasis und eine am linken Oberschenkel. Der Widerstand jeder Ableitung beträgt nicht über 1000 Ohm.

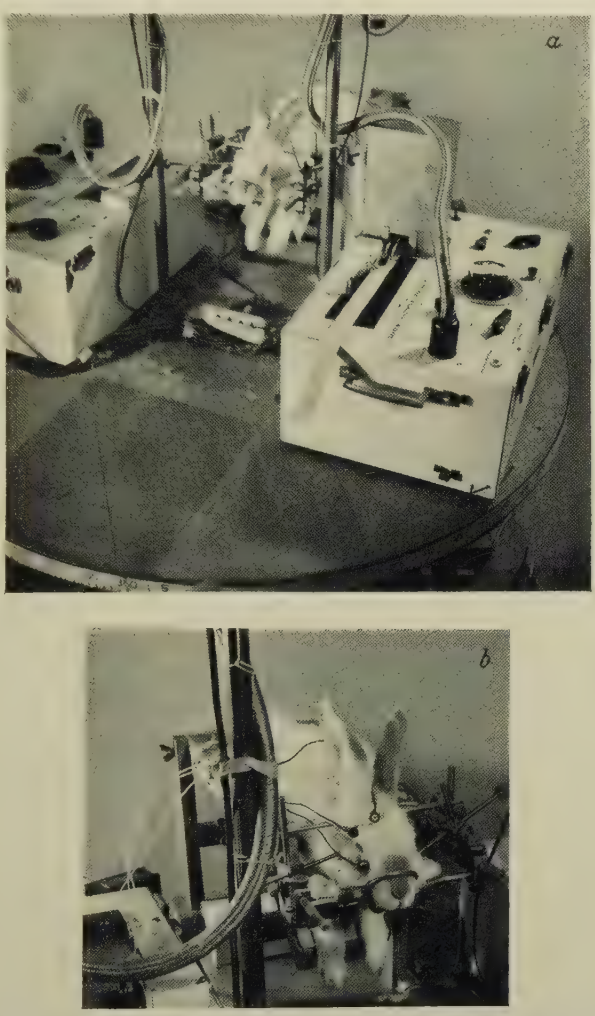


Abb. 1. Versuchsanordnung für Elektronystagmographie beim Tier. a) Drehscheibe zur Erzeugung des rotatorischen Nystagmus. Versuchstier und Registrierapparate sind auf der Scheibe fixiert. b) Anordnung der Ableitungselektroden und der Erdung.

Zur Registrierung läßt sich ein jedes Verstärkersystem mit elektromagnetischem Oszillograph verwenden, selbst Typus Garçeau-Junior hat eine noch genügende Zeitkonstante für die Nystagmographie. Der Apparat wird auf der Drehscheibe neben dem Versuchstier befestigt. Eine störende Einwirkung der Drehung auf die Federn des Oszillographen läßt sich nicht beobachten. Jedenfalls ergab sich

insofern, als wir den Apparat mitdrehten, technisch keine Komplikation; denn anderenfalls hätten wir zur Verbindung des kreisenden Tieres mit einem stabilen Registrierinstrument umständliche Schleifkontakte benötigt.

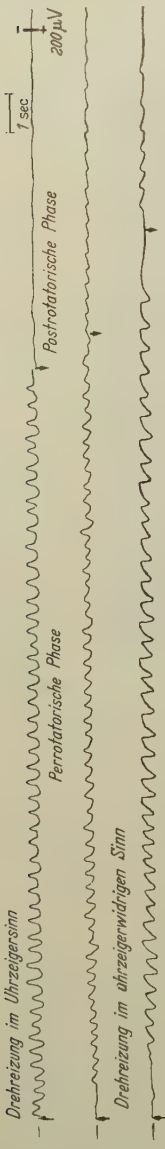


Abb. 2. Kurven des elektrisch registrierten Drehnystagmus beim Kaninchen unter normalen Bedingungen.

Zur Drehreizung wird die Scheibe mit zunehmender Beschleunigung rotiert, und zwar bis zur optimalen Geschwindigkeit von 90° pro Sekunde. Im ganzen werden 5 volle Drehungen innerhalb 20 sec ausgeführt. Diese Geschwindigkeit — die halbe derjenigen, die Barany benutzte — stellt eine physiologische Reizung dar; höhere Geschwindigkeiten müssen schon als unphysiologische Reizung aufgefaßt werden. Abwechslungsweise wird das Tier einmal von links nach rechts im Uhrzeigersinn und einmal von rechts nach links entgegen dem Uhrzeigersinn gedreht. Damit die Erregbarkeit des Vestibularapparates wieder auf ihre Ausgangslage zurückkehrt, muß man zwischen jeder Drehreizung wenigstens eine Viertelstunde warten.

Ergebnisse.

Auswertung des Elektronystagmogramms.

Wenn die Elektroden mit den Verstärkereingängen adäquat verbunden sind (1. Elektrode unten vorn, 2. Elektrode oben hinten), erhält man am rechten Auge für die schnelle Komponente des perrotatorischen Nystagmus (nach hinten weisend) einen Ausschlag nach oben mit steilem Anstieg, entsprechend der negativen Schwankung des corneo-retinalen Bestandpotentials. Umgekehrt liegen die Verhältnisse beim Nachnystagmus: steiler Abfall der elektropositiven Ausschläge (Fig. 2). Für das linke Auge gilt Vorgenanntes im gegenteiligen Sinne.

Die Parameter, die zur Auswertung des Elektronystagmogramms in Frage kommen, sind die Latenz, Richtung, Steilheit, Dauer, Anzahl und Frequenz der Ausschläge sowie die Gesamtamplitude und das Amplitudenmittel des per- und postrotatorischen Nystagmus. Um einen allgemeinen Überblick über den Kaninchennystagmus zu geben, haben wir für die einzelnen Kriterien die Mittelwerte aufgestellt und auch die Streuungen berechnet, dies nach der Formel $s = \sqrt{\frac{S\,(xi - \bar{x})^2}{n-1}}$. Im einzelnen ergibt sich dann folgendes (siehe Tab. 1).

Tabelle 1. *Kriterien des Drehnystagmus beim Kaninchen.*

A. Perrotatorischer Nystagmus.

Latenz in sec	Dauer in sec	Gesamtzahl der Ausschläge	Frequenz pro sec	Gesamt-Amplitude in mm [1]	Amplituden Mittel in mm [1]
1,1	14,7	27,8	3,0	58,4	1,8
(0,45) [2]	(4,6)	(13,7)	(0,4)	(62,36)	(1,0)

B. Postrotatorischer Nystagmus.

Latenz in sec.	Dauer in sec.	Gesamtzahl der Ausschläge	Frequenz pro sec	Gesamt-Amplitude in mm	Amplituden Mittel in mm
0	4,85	8,93	3 <	11,46	1,34
	(3,43)	(7,3)		(12,34)	(0.84)

[1] bzw. in Mikrovolts, wobei 3 mm = 100 μV.

[2] Standardabweichung $s = \sqrt{\frac{S(xi - \bar{x})^2}{n-1}}$. *

Die *Latenz* hängt von der anfänglich zunehmenden Winkelbeschleunigung ab. In unseren Versuchen wurde die volle Geschwindigkeit nach einer Winkeldrehung von 90° erreicht, so daß der Nystagmus durchweg etwa 1 sec mit einer Streuung von 0.45 nach Beginn der Rotation einsetzt.

Die *Richtung* der Ausschläge ist besonders ersichtlich an der Form des Anstiegs und variiert natürlich je nach der Richtung der Drehreizung. Eine solche im Uhrzeigersinn ergibt am rechten Auge bei vorgenannter Placierung der Elektroden elektronegative Ausschläge während der perrorotatorischen Phase.

Die *Dauer* des perrotatorischen Nystagmus beträgt im Durchschnitt 15 sec (mit einer Streuung von 4,6); das bedeutet, daß nur etwa ¾ der Reizdauer mit einem Nystagmus beantwortet wird. Postrotatorisch entsteht durchweg während 5 sec ein Nystagmus; die relativ hohe Streuung von 3,4 ist zurückzuführen auf Fälle, in denen eine postrotatorische Phase bis zu 15 sec auftritt. Interessant ist, wie individuell verschieden der Drehnystagmus eines jeden Kaninchens ist. Das eine hat während der ganzen Dauer der Reizung einen Nystagmus, das andere nur in einem Teil der Drehreizung, dafür aber dann stärker in der postrotatorischen Phase. Wieder ein anderes zeigt kaum perrotatorischen Nystagmus, dafür dann aber einen ausgeprägt schönen Nachnystagmus. Diese individuelle Nystagmusform haftet dem Tier an und

* Herrn Prof. A. Linder, Direktor des Laboratoriums für statistische Mathematik an der Universität Genf, und seinem Assistenten J. P. Imhoff gebührt für ihre Unterstützung bei diesen Berechnungen unser ergebenster Dank.

ist unabhängig von Stunde, Ernährung oder pharmakologischen Bedingungen und verändert sich auch in Wochen der Beobachtung nicht. Es sei aber erwähnt, daß es auch Kaninchen gibt, bei denen man gar keinen Nystagmus feststellt, selbst nicht bei oder nach verschiedensten Drehgeschwindigkeiten.

Die Zahl aller perrotatorischen Ausschläge, im Durchschnitt 28 betragend, streut um 14; postrotatorisch finden sich zwar im Mittel nur 9 Ausschläge; die Streuung von 7 spricht aber dafür, daß auch hierbei die individuellen Unterschiede beträchtlich sind.

Die *Frequenz* der Ausschläge, ausgedrückt als Mittel pro Sekunde, ist sehr konstant und beträgt 3/sec.

Die *Gesamtamplitude* der Ausschläge erweist sich gewöhnlich als bedeutend größer für die perrotatorische Periode als für die postrotatorische. Das Verhältnis ist etwa 5:1. Selten erhält man per- und postrotatorische Antworten von gleicher Intensität, so daß die generellen Werte beträchtlich streuen.

Amplitudenmittel. Für praktische Zwecke, im Dienste pharmakologischer Untersuchungen über die Erregbarkeit des vestibulären Apparates hat sich die Berechnung der mittleren Amplitude, bzw. der mittleren Spannung, sehr bewährt. Zu diesem Zweck wird zuerst durch Addition der Höhen aller einzelnen Ausschläge die Gesamtamplitude berechnet. Die Division der Gesamtamplitude durch die Gesamtzahl der Ausschläge ergibt die mittlere Amplitude in mm, bzw. die mittlere Spannung in μV. Für den perrotatorischen Nystagmus erhält man dann ein Amplitudenmittel von 1,8 mm, für den postrotatorischen von 1,35 mm. Da einer Amplitude von 3,0 mm eine Spannung von 100 μV entspricht, beträgt die mittlere perrotatorische Amplitude also 60 μV.

Anwendung der Methodik zur Prüfung der Wirksamkeit von Antihistaminica-Chlortheophyllin-Verbindungen.*

Um die Brauchbarkeit unserer Methodik auf dem Gebiet der Pharmakologie zu prüfen, haben wir beim Kaninchen die Wirkung von Kombinationen von Antihistaminica mit Chlortheophyllin auf den Drehnystagmus untersucht. Die Kriterien, die bis heute zur Prüfung der Wirksamkeit von Pharmaka auf den Vestibularapparat Geltung hatten, waren unbefriedigend. Man berücksichtigte nur indirekte vegetative Reaktionen, z. B. die Reizschwelle des Brechaktes. Die Elektronystagmographie erlaubt hingegen einen unmittelbaren Einblick in die Erregbarkeit des Vestibularapparates, wobei oben genannte quantitativ erfaßbare Parameter zur Verfügung stehen.

* Die Pharmaka wurden uns freundlicherweise vom Laboratoire Médial (Dr. M. Mori), Genf, zur Verfügung gestellt.

Die Messungen wurden zuerst am Kaninchen ohne medikamentöse Beeinflussung ausgeführt, dann in regelmäßigen Zeitabständen nach Eingabe des Medikamentes mittels Magensonde auf Grund wiederholter Registrierungen kontrolliert, z. B. nach 20, 35, 50 min. Da sich meist schon nach 20 min die deutlichste Wirkung zeigte, haben wir die Ergebnisse tabellarisch erfassen können, wobei für jedes Kriterium eine besondere Rubrik für die Werte vor und 20 min nach der Medikation eingerichtet wurde. Als besonders wertvoll erwies sich dabei die Differenz der mittleren Amplitudenwerte. Im folgenden seien die Resultate der Registrierung des Drehnystagmus in Dutzenden von Experimenten am Kaninchen besprochen.

Bei der Beurteilung der Wirkung von Pharmaka gingen wir nun aus von der gesonderten Prüfung des Diphenhydramins (Benadryl) und 8-Chlortheophyllins, die in Form des Salzes ein klassisches Medikament gegen die Nausea darstellen. Es wird hier gesprochen von dem Vergleich der Vestibularisreizung vor der Medikation und 20 min nach Eingabe des Mittels, das in gleichmäßig schnell resorbierbarer Form per Sonde in den Magen gebracht worden ist (siehe Tab. 3).

Diphenhydramin, allein gegeben, in einer Dosierung von 12 mg/kg gelöst in 4 cm^3 Wasser, hat die perrotatorische Nystagmusdauer nicht verkürzt und die mittlere Amplitude nicht verkleinert.

Chlortheophyllin allein (10 mg/kg) hat nur eine geringe dämpfende Wirkung auf die perrotatorische Nystagmusdauer und das Amplitudenmittel gezeigt.

Tabelle 2. *Wirkung des Diphenhydramin-8-Chlortheophyllinats* (Mediamer) *auf den perrotatorischen Nystagmus beim Kaninchen.*

	Latenz in sec	Dauer in sec	Frequenz pro sec	Amplitudenmittel in mm[1]
vor Medikation	1,0 (0,36)[2]	14,6 (3,4)	3,19 (1,5)	1,52 (0,36)
20 min nach Medikation	1,0 (0,7)	11,7 (5,8)	2,94 (0,07)	0,92 (0,17)

[1] bzw. in Mikrovolts, wobei 3 mm = 100 μV.

[2] $s = \sqrt{\frac{S(xi - \bar{x})^2}{n-1}}$.

Eine Reihe von Versuchen wurde am *Diphenhydramin-8-Chlortheophyllinat* (*Dramamin* oder *Mediamer*) ausgeführt (Tab. 2), und zwar in der unseren Erfahrungen nach optimalen Dosierung von 20 mg/kg. An Hand der mittleren Amplitude ist eine deutliche reduzierende Wirkung zu erkennen, wenngleich auch schon einmal ein Wert perrotatorisch

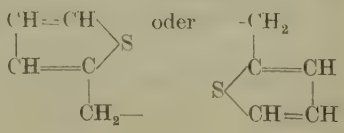
geringere Wirkung zeigt, weil das Tier vorwiegend Nachnystagmus aufwies. Die doppelte Dosis ergibt in diesem Vergleich fast auch die doppelte Wirkung. Die Streuwerte werden in allen Fällen überschritten, so daß man wirklich von einem nystagmushemmenden Einfluß durch Mediamer (Dramamin) sprechen kann. Es zeigt sich, daß Latenz und Frequenz/sec sich nicht verändern, während das Amplitudenmittel des perrotatorischen Nystagmus sich deutlich verkleinert. Der Schwerpunkt der pharmakologischen Beurteilung kann sich auf das Amplitudenmittel vor und nach Medikation, besonders ausgedrückt in seiner -|- -Differenz, konzentrieren, wobei aber wiederum i. a. nur die Werte Bedeutung haben, die außerhalb der Streuung liegen.

In diesem Sinne weisen *Pyrathiazin* (N-[β-1-Pyrrolidyl-äthyl]-phenothiazin — „Pyrrolazat") sowie Methoxyphenamin (β-o-Methoxyphenyl-isopropyl-methylamin „Orthoxin") in Kombination mit 8-Chlortheophyllin bei gleicher Dosierung wie Diphenhydramin-8-Chlortheophyllinat eine noch stärker dämpfende Wirkung auf den Vestibularapparat auf als das oben beschriebene Mediamer.

Die anderen Verbindungen mit Chlortheophyllin, wie die von *Thenylpyramin* (N-Dimethyl-N′-[2-pyridyl]-N′-[2-thenyl]-äthylendiamin — „Thenylen"), *Chlorthenylpyramin* (N-Dimethyl-N′-[2-pyridyl]-N′-2-[5-Chlorthenyl*]-äthylendiamin „Tagathen"), *Tripelenamin* (N-Dimethyl-N′-[2-pyridyl]-N′-benzyl-äthylendiamin — „Pyribenzamin") und *Pyranisamin* (N-Dimethyl-N′-[2-pyridyl]-N′-[p-methoxybenzyl]-äthylendiamin Neoantergan) haben keine nennenswerte sedative Wirkung oder erhöhen sogar die Nystagmus-Bereitschaft.

Gefragt wurde ferner, ob Scopolamin (= *Hyoscin*) als Komponente früherer Medikamente gegen die Seekrankheit einen bestimmten Einfluß ausübt. Die Versuche zeigten, daß Hyoscin allein, in einer Dosierung von 0,2 mg/kg, den Nystagmus verstärkt. *In Verbindung mit Pyrathiazin-8-Chlortheophyllinat* und *Thenylpyramin-8-Chlortheophyllinat* ist die Wirkung zwar etwas schwächer, aber zu einer Nystagmushemmung kommt es nicht.

Da nun diese nystagmusreduzierenden Medikamente eine gewisse Somnolenz verursachen, wurde *Mediamer mit Coffein* gepaart verabreicht. Trotz dieser Kombination kommt die, wenn auch schwächere, beruhigende Wirkung des Mediamers auf den Vestibularapparat doch noch zum Ausdruck. *Amphetamin in Verbindung mit Mediamer* verstärkt

* „thenyl" = thienyl thiophenyl-methyl  oder

Medikament	Dosis	Latenz in sec		Nyst.-Dauer in sec		Frequenz pro sec		Mittl. Amplitude in mm		Differenz
	mg/kg	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	in mm
Diphenhydramin (Benadryl)	12	1,5	2,0	14	18	3	3	1,1	1,85	+ 0,75
8-Chlortheophyllin allein	10	1,0	1,0	19	17,5	2,5	2,75	3,7	2,35	— 1,35
Diphenhydramin-8-Chlortheophyllinat (Mediamer)	20	1,0	1,0	15,5	9,5	2,75	2,75	1,6	1,0	— 0,6
	20	0,5	0	9,5	15	4	3	1,66	0,95	— 0,7
	20	1,0	1,0	14,5	19	3	3	1,9	1,1	— 0,8
	20	1,5	2,0	19	3,5	3	3	0,94	0,66	— 0,28
	40	0,5	1,0	10	8	3	3	2,65	1,1	— 1,55
Pyrathiazin (Pyrrolazot)-8-Chlortheophyllinat	20	0,75	1,0	16,75	19,25	3	2,5	1,46	1,0	— 0,46
		0,75	1,0	19	17,5	3	2,75	3,4	0,91	— 2,49
Metoxyphenamin (Orthoxin)-8-Chlortheophyllinat	20	1,0	1,0	18,5	19	2,5	2,5	1,9	0,9	— 1,0
Thenylpyramin (Thenylen)-8-Chlortheophyllinat	20	1,0	0,75	19	18	3	3	1,8	1,76	— 0,04
Chlorthenylpyramin (Tagathen)-8-Chlortheophyllinat	20	0,25	0,5	18,5	19,5	3	3	0,8	1,2	+ 0,4
Tripelenamin (Pyribenzamin)-8-Chlortheophyllinat	20	0,5	0	8	15	4	4	2,5	2,6	+ 0,1
Pyranisamin (Neo-antergan)-8-Chlortheophyllinat	20	1,0	0,75	20	19,75	2,75	3	1,1	1,9	+ 0,8
Hyoscin allein	0,2	1,5	1,0	13	14	3	3	1,86	1,9	+ 0,04
		2,0	1,0	11	17	3,5	3,5	1,0	1,43	+ 0,43
Hyoscin	0,2									
+		1,5	1,0	9,5	15	3	2,75	0,9	0,9	0
Pyrathiazin-8-Chlortheophyllinat	20									
Hyoscin	0,2									
+		0,75	0,75	12,25	19,25	2,5	2,5	1,45	1,5	+ 0,05
Thenylpyramin-8-Chlortheophyllinat	20									
Coffein	40									
+		1,0	1,0	19,5	20	3	3	1,43	1,3	— 0,13
Diphenhydramin-8-Chlortheophyllinat	20									
Amphaetamin sulf.	8									
+		2,0	1,0	5	6,5	2,75	2,75	0,65	0,76	+ 0,1
Diphenhydramin-8-Chlortheophyllinat	20									

aber den Nystagmus. Bei beiden Kombinationen liegt aber der Wirksamkeitsfaktor in Gestalt der Differenz der Amplitudenmittel noch innerhalb der Streubreite.

Über die Dauer der pharmakologischen Einwirkung auf den Vestibularapparat läßt sich sagen, daß eine Beeinflussung des Drehnystagmus durch die verschiedenen Verbindungen des 8-Chlortheophyllins mit Pyrathiazin, Thenylpyramin und Diphenhydramin (Mediamer) mit und ohne Coffein wenigstens eine Stunde anhält. Pyrrolazot-8-Chlortheophyllinat zeigte sogar eine mehrstündige, beruhigende Wirkung.

Zusammenfassung.

Es wird eine Methodik der Elektronystagmographie beim Tier beschrieben, mit der es möglich ist, pharmakologische Einwirkungen auf die Erregbarkeit des Vestibularapparates zu prüfen. An Hand von Beispielen einzelner Antihistaminica in Verbindung mit Chlortheophyllin wird die praktische Anwendbarkeit der Methode in der Pharmakologie erprobt. Dabei findet sich, daß die nystagmushemmende Wirkung von Pyrathiazin-8-Chlortheophyllinat (Pyrrolazot-8-Chlortheophyllinat) stärker und anhaltender ist als die des Diphenhydramin-8-Chlortheophyllinats.

Literatur.

Monnier, M., u. H. J. Hufschmidt: Helvet. Physiol. Acta **8**, C 30 (1950); **9**, 348 (1951). Monnier M. und H. Laue: Helv. Physiol. Acta **10**, C 20. (1952.) — Montandon, A., et M. Monnier: Annal. d'Oto-Laryngologie **68**, 761 (1951). — Montandon, A., M. Monnier, E. Croci et W. Brunner: Riv. Oto-neuro-oft. **26**, 526 (1951). Conf. Neurol. **12**, 255 (1952).

Prof. Dr. M. Monnier, Laboratoire Neurophysiologie Appliquée,
14, rue Barthélémy-Menn, Genf/Schweiz.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 91—97 (1953).

Aus dem Max Planck-Institut für Chemie, Mainz
(Direktoren: Prof. Dr. J. Mattauch und Prof. Dr. F. Strassmann).

Eine Methode zur Bestimmung der reticulo-endothelialen Clearance für Makromoleküle mit Hilfe von ^{32}P markiertem Kalium-Natrium-Polymetaphosphat.

I. Mitteilung.

Von
M. Frimmer.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. Juli 1952.)

Im Rahmen der immer mehr fortschreitenden funktionellen Betrachtungsweise in der Pathophysiologie haben sich die Clearancemethoden zur Erfassung definierter Organleistungen gut bewährt. Während die renale Clearance bereits Eingang in die Klinik gefunden hat, ist die Erfassung weiterer extrarenaler Clearanceleistungen von Organen oder Organsystemen vielerorts Gegenstand von experimentellen Arbeiten. Die vorliegenden Untersuchungen sollen zeigen, daß die Elimination von körperfremden Hochpolymeren durch das reticulo-endotheliale System (RES) eine derartige Clearancefunktion darstellt.

Es ist seit langem bekannt, daß Fremdkörper von mikroskopischer und submikroskopischer Teilchengröße aus dem Blut durch das RES eliminiert werden und vom RES je nach ihrer chemischen Zusammensetzung gespeichert bzw. abgebaut werden. Solche Fremdkörper sind z. B.: Kohlenstoffpartikelchen (Tusche u. dgl.), feindispergierte Metalle, kolloidale Metalle (Gold, Silber), kolloidale Metallverbindungen (Eisenhydroxyd), eine große Anzahl von kolloidalen Farbstoffen (z. B. Trypanblau), sowie viele andere hochmolekulare Verbindungen verschiedenster Struktur. Die Eliminationsgeschwindigkeit sowie die Bevorzugung bestimmter Organe des RES hängt dabei sowohl von der Teilchengröße als auch von der Chemie der verabfolgten Substanz ab. Nicht immer erfolgt die Verminderung der Blutkonzentration exponentiell. Die Verwendung der Großzahl der beschriebenen Substanzen für eine Clearancemethode scheidet deswegen aus, weil weder die Eliminationszeit noch der Eliminationsmodus reproduzierbar sind, weil ferner die für eine exakte chemische Blutkonzentrationsbestimmung notwendigen Konzentrationen so hoch sein müßten, daß sie ihrerseits zu sekundären pharmakologischen Erscheinungen führen würden (die wiederum, wie an anderer Stelle ausgeführt werden soll, den exponentiellen Konzentrationsablauf stören) und weil die nachfolgende Speicherung in der Mehrzahl der Fälle irreversibel ist, wodurch eine Ausdehnung der Versuche auf den Menschen a priori ausscheidet.

In Untersuchungen über das Verhalten hochpolymerer körperfremder Polyphosphate in der Blutbahn des Säugetierorganismus[1] konnte festgestellt werden, daß die Elimination von Kalium-Natriumpolymeta-

phosphat (im folgenden PMP genannt) exponentiell verläuft. Ein exakt exponentieller Verlauf war jedoch nur dann gewährleistet, wenn eine Dosierung von 0,5 mg/kg Körpergewicht nicht überschritten wurde. Weiterhin konnte festgestellt werden, daß die renale Elimination des PMP einen größenordnungsmäßig zu vernachlässigenden Prozentsatz ausmacht. Die im Versuchsverlauf ausgeschiedene geringe Phosphatmenge besteht vorwiegend aus niedermolekularen Bruchstücken des PMP. Die Speicherung erfolgt vorwiegend in Leber und Milz, wo die Substanz im Verlauf einiger Tage abgebaut wird. Die niedermolekularen Bruchstücke werden zum Teil im Harn ausgeschieden oder gehen in den allgemeinen Stoffwechsel ein. Tab. 1 zeigt die Verteilung von ^{32}P markiertem PMP über die

Tabelle 1.

♀ Hund kg. Injiziert 56,26 mg PMP, enthaltend $2{,}8 \cdot 10^7$ T/min

Organ	Gemessene T/min pro g Organ	entsprechend Gamma PMP/g Organ
Leber	$6{,}83 \cdot 10^4$	137,5
Milz	$5{,}699 \cdot 10^4$	114,5
Lunge	$1{,}68 \cdot 10^4$	33,8
Niere	$9{,}59 \cdot 10^3$	19,25
Nebenniere	$6{,}02 \cdot 10^3$	12,1
Ovar	$4{,}515 \cdot 10^3$	8,9
Knochenmark	$2{,}46 \cdot 10^3$	4,95
Schilddrüse	$2{,}32 \cdot 10^3$	4,67
Lymphknoten	$1{,}478 \cdot 10^3$	2,97
Herz	$1{,}429 \cdot 10^3$	2,87
Magen	$6{,}82 \cdot 10^2$	1,37
Zwerchfell	$5{,}77 \cdot 10^2$	1,16
Gehirn	$1{,}0 \cdot 10^2$	0,21

Organe des Hundes nach erfolgter Elimination aus dem Blut. Umgerechnet auf die Organgewichte entfällt der Hauptanteil auf Leber und Milz. Auffallend niedrig erscheinen die Werte der Lymphknoten. Dieser Befund darf wohl so erklärt werden, daß der Anreicherungsfaktor zwar einerseits eine Funktion der Organaffinität, andererseits aber der Organdurchblutung ist[2].

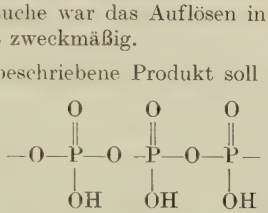
Aus den geschilderten Untersuchungen geht hervor, daß die Elimination von PMP nach Art einer Clearance erfolgt. Die oben beschriebene Dosierungsgrenze erfordert eine empfindliche Nachweismethode des PMP, für die praktisch nur eine Markierung mit ^{32}P in Frage kommt. Im Folgenden soll untersucht werden, ob die Eliminationsgeschwindigkeit des PMP beim selben Individuum reproduzierbar ist, ob sie unter den einzelnen Individuen verschieden ist, ob eine Abhängigkeit von der Dosis besteht und ob sie durch Blockade des RES im Sinne einer Verlängerung beeinflußbar und somit für die Funktion des RES spezifisch ist.

Experimenteller Teil.

Darstellung des ^{32}P markierten Kalium-Natrium-Polymetaphosphats.

Monokaliumphosphat, das mit einer gewichtsmäßig kleinen Menge ^{32}P-Phosphat vermischt ist, wird im Platintiegel 20 min auf Rotglut erhitzt. Das Salz gibt dabei sein Wasser ab und sintert ohne zu schmelzen. Nach Pulverisieren der Masse wird diese mit zwei Äquivalenten NaCl in wäßriger Lösung behandelt, wobei eine zähflüssige plastische Masse entsteht. Das Produkt wird von unlöslichem Phosphat befreit, durch Fällen mit Alkohol erhält man ein chlorfreies Produkt, das in Wasser löslich ist. Für unsere Versuche war das Auflösen in 0,9%iger NaCl-Lösung zur Erniedrigung der Viscosität zweckmäßig.

Dieses von Tammann beschriebene Produkt soll folgende Struktur besitzen:



Die ausführliche Veröffentlichung der Darstellungsmethode erfolgt an anderer Stelle[1].

Tierversuche.

Alle Versuche wurden an einem heterogenen Hundematerial durchgeführt. Nach Freilegung beider Femoralvenen in der Leistenbeuge in Pernoctonnarkose erfolgte die Injektion des radioaktiven PMP in die Vene der einen Seite, während die Blutentnahme grundsätzlich aus der Vene der anderen Seite vorgenommen wurde. Das mit einer nachgeeichten 1 ml Spritze entnommene Blut kam nach gründlicher Vermischung mit 9 cm^3 3,8%iger Natriumcitratlösung in einem Flüssigkeitszählrohr zur Messung. Die Blutentnahmen erfolgten zu Beginn der Versuche in 2-—5minütlichen Abständen. Nach 30 min wurden die Abstände vergrößert und gegen Ende der Versuche auf 15 min erweitert. Aus statistischen Gründen müssen jeweils mindestens 1000 Teilchen ausgezählt werden. Die Messung des zur Injektion vorgesehenen Präparates kann wegen der hohen Teilchenzahl nur nach vorheriger starker Verdünnung durchgeführt werden. Die gemessenen Teilchenzahlen aus den Blutproben wurden bei allen Versuchen logarithmisch gegen die Zeit aufgetragen. Als Maß für die Eliminationszeit diente in Anlehnung an den radiochemischen Gebrauch der Begriff der *Eliminationshalbwertzeit*. Darunter ist diejenige Zeit zu verstehen, die bis zur Reduktion einer gegebenen Blutkonzentration auf die Hälfte verstreicht.

Die Blockade des RES wurde in der üblichen Weise durch tägliche intravenöse Injektionen von mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnter Tusche durchgeführt.

Ergebnisse und Diskussion.

Abb. 1 zeigt, daß das injizierte PMP nach 3 Std bis auf geringe Reste aus dem Blut verschwunden ist. Der Konzentrationsabfall ist über weite Strecken hin exponentiell und läuft erst im untersten Teil der Kurve in einer Waagerechten aus, die nach vorläufigen Befunden vorwiegend auf nachgebildetes monomeres Phosphat zurückzuführen ist. Die zweimalige Wiederholung des Versuches ergibt eine gute Reproduzierbarkeit des Gefälles, lediglich der waagerechte Auslauf der Kurve nimmt an Höhe

zu, was mit einem erhöhten Abbau des PMP und einer Addition der Abbauprodukte aus den vorangegangenen Versuchen erklärt werden kann. Abb. 2 zeigt den Anstieg der Aktivität in der Milz, der durch operative Freilegung des Organs und Oberflächenmessung mittels eines Geiger-Müller Fenster-Zählrohrs gemessen wurde. Die Aktivitäts-

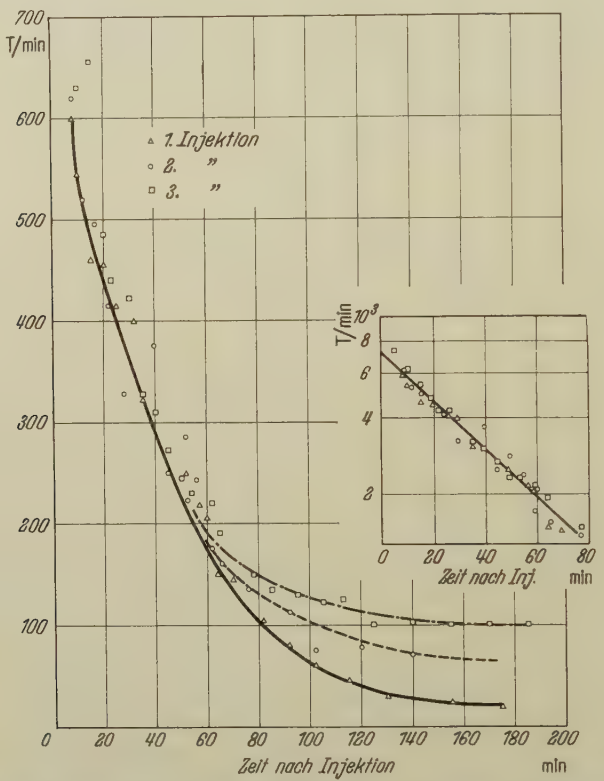


Abb. 1. Konzentrationszeitkurven bei dreimaliger Injektion gleicher Polyphosphatmengen. In der rechten Abb. sind die Aktivitäten zur Veranschaulichung des exponentiellen Charakters der Elimination logarithmisch aufgetragen.

zunahme erfolgt analog der Konzentrationsabnahme im Blut. In Abb. 3 ist die Dosis pro Kilogramm Körpergewicht gegen die gemessene Eliminationshalbwertzeit von allen durchgeführten Versuchen ohne Auswahl aufgetragen. Wenn auch eine strenge Abhängigkeit infolge der Alters- und Rasseverschiedenheit der Versuchstiere sowie deren Ernährungszustand nicht zu erwarten ist, so erkennt man doch, daß bei niederer Dosierung die Eliminationshalbwertzeit in der Regel kürzer ist als bei hoher Dosierung. Eine derartige Abhängigkeit konnte auch bei Versuchen am selben Tier bei nacheinanderfolgender niedriger und hoher

Dosierung (bezogen auf mg/kg Körpergewicht, nicht auf Aktivität) ermittelt werden. Aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß vergleichbare Eliminationshalbwertzeiten nur bei Anwendung annähernd gleicher PMP-Mengen gewährleistet sind.

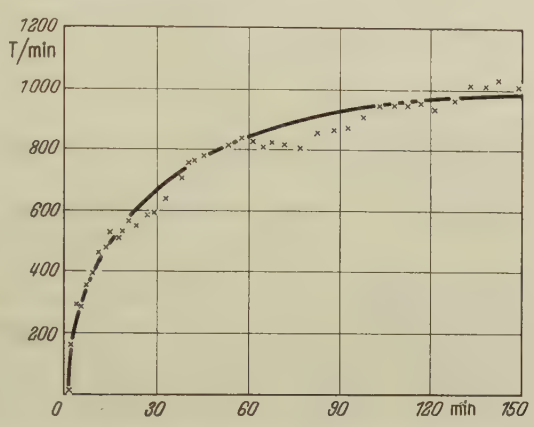


Abb. 2. Zunahme der PMP-Konzentration in der Milz. Oberflächenmessung am vorgelagerten Organ.

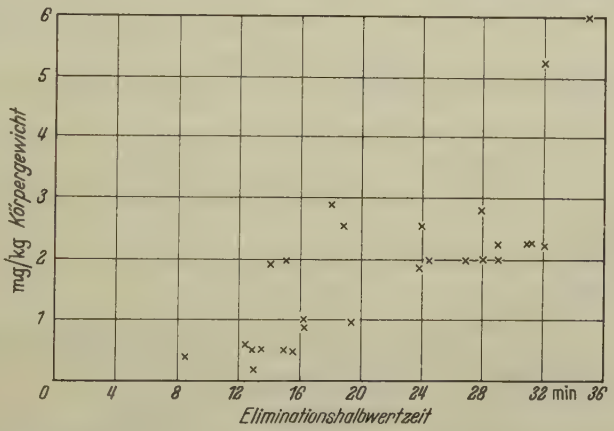


Abb. 3. Abhängigkeit der Eliminationshalbwertzeit von der gewichtsmäßigen PMP-Dosis.

Die Tatsache einer Dosisäbhängigkeit der Eliminationshalbwertzeit steht auf den ersten Blick in einem gewissen Gegensatz zu dem oben postulierten Exponentialgesetz. Da größere PMP-Dosierungen jedoch häufig Kreislaufwirkungen erzeugen, ist die Dosisabhängigkeit der Eliminationshalbwertzeit auf eine Veränderung der intestinalen Durchblutung zurückzuführen. Auf die Abhängigkeit der PMP-Clearance von den Verhältnissen des intestinalen Kreislaufs wird in einer nachfolgenden Veröffentlichung eingehend eingegangen[2].

Abb. 4 und 5 zeigen, daß die Eliminationshalbwertzeit nach Blockade des RES mit Tusche signifikant zunimmt und daß auch eine gewisse Abhängigkeit von der Dosis der injizierten Tusche besteht. Damit dürfte

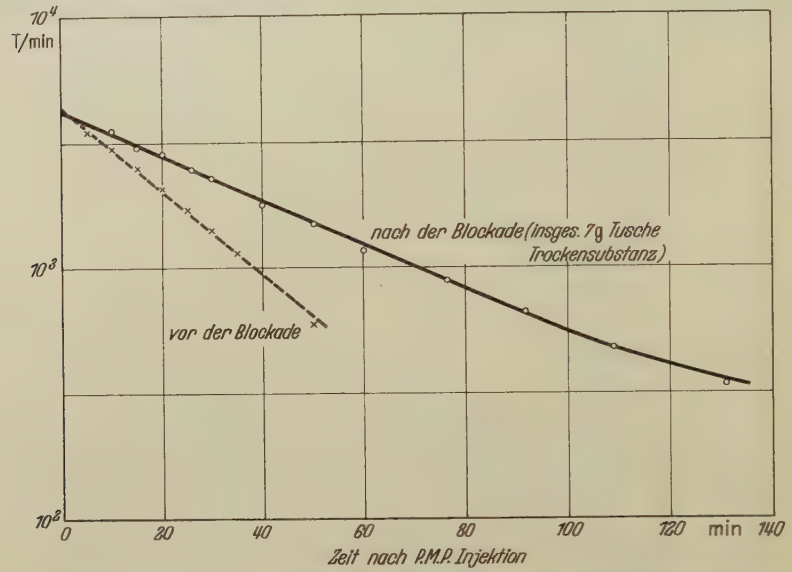


Abb. 4. PMP-Elimination bei einem 20 Kilogramm schweren Hund, vor und nach Tuscheblockade.

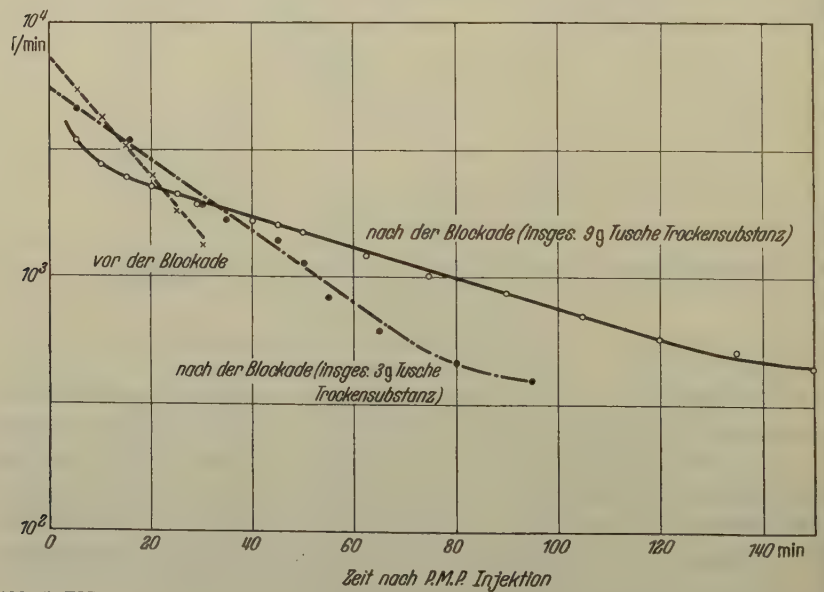


Abb. 5. PMP-Elimination bei einem 22 Kilogramm schweren Hund, vor und nach Tuscheblockade verschiedenen Grades.

die Wahrscheinlichkeit der RES-spezifischen Eliminationsleistung für PMP angenommen werden. In weiteren Arbeiten soll untersucht werden, ob die Eliminationshalbwertzeit des RES für PMP experimentell verändert werden kann und somit Aussagen über den Funktionszustand des RES zuläßt. Versuche am Menschen wurden noch nicht durchgeführt und erscheinen nach dem bisher vorliegenden Material noch verfrüht.

Zusammenfassung.

1. Radioaktiv markiertes Polymetaphosphat wird vorwiegend in den Organen des RES gespeichert.

2. Die Elimination aus dem Blut erfolgt bei angemessener Dosierung weitgehend exponentiell.

3. Die renale Elimination ist von vernachlässigbarer Größenordnung.

4. Die Eliminationshalbwertzeit weist individuelle Schwankungen auf.

5. Sie ist am selben Individuum gut reproduzierbar und ist

6. deutlich dosisabhängig.

7. Die Eliminationshalbwertzeit läßt sich durch Blockade des RES, abhängig von der Größe der Tuscheinjektionen, verlängern und erscheint somit spezifisch für das RES.

Ich danke Frl. Baddenhausen für die freundl. Unterstützung bei den Messungen.

Literatur.

[1] Götte, H., u. M. Frimmer: Angew. Chem. (in Druck). — [2] Frimmer, M., u. H. Götte: Diese Zeitschrift (in Druck).

Dr. M. Frimmer, Max Planck-Institut für Chemie, Mainz, Saarstraße 17.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 98—106 (1953).

Aus der Medizinischen Universitätsklinik u. Poliklinik der Universität Göttingen (Direktor: Prof. Dr. R. Schoen).

Der Lipoidstoffwechsel des tetrachlorkohlenstoffvergifteten Hundes unter der Wirkung von Methionin, Inositol und Invertzucker.

Von

Fritz Hartmann, Franz Ruwe und Günter Schulze.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Mai 1952.)

In früheren Untersuchungen[1, 2] wurde gezeigt, daß unter Tetrachlorkohlenstoffeinwirkung in der Leber der Ratte die Neutralfette erheblich, die Phosphatide gering ansteigen, im Blut des ebenso vergifteten Hundes die Cholin-haltigen Phosphatide erheblich absinken. Die lipotropen Substanzen — untersucht wurden Methionin, Cholin, Inositol, Invertzucker, Vitamin E — fördern im Blut den Anstieg der Phosphatide. Im Erholungsstadium in der Leber fallen unter ihrer Wirkung die Neutralfette ab, die Phosphatide steigen an. Diese Befunde berechtigen zu der Auffassung, daß die lipotropen Stoffe in der Leber an der Umwandlung von Neutralfett in die Phosphatide beteiligt sind. Die Wirkung kann direkt sein, d. h. sie bilden wie das Cholin oder Inositol einen Baustein oder wie das Methionin die Vorstufe eines Bausteins der Phosphatide. Für den Invertzucker und das Vitamin E wurde ein indirekter wohl katalytischer lipotroper Effekt vermutet, ohne daß die bisherigen Analysen an der Ratte einen Beweis dafür erbrachten. Da außerdem die Wirkung der Blutlipoide bisher am Hund, diejenige auf die Leberlipoide an der Ratte gefunden wurde, fehlte zum Beweis des funktionellen Zusammenhangs der Blut- und Leberlipoide ihre gleichzeitige Untersuchung am gleichen Tier. Durch die Bestimmung der Einbaugeschwindigkeit radioaktiven Phosphors in die Blutlipoide hofften wir außerdem ein direktes Maß für die Intensität der Phosphatidsynthese in der Leber zu finden.

Methodik.

Zum Versuch wurden 25 Hunde benutzt. Zu Beginn wurden die Tiere laparatomiert und ihnen ein Stück des li. Leberlappens entfernt. In Leber und gleichzeitig entnommenem Blut wurden die Lipoidfraktionen quantitativ nach Schulze[3] bestimmt. Nach Erholung von der Laparatomie, im allgemeinen 3 Wochen, wurde die Einbaugeschwindigkeit von radioaktivem Phosphor in die Plasmaphosphatide bestimmt. Der Phosphor wurde den Tieren in einer Menge von 0,4 Milli-Curie

als $H_3P^{32}O_4$ gegeben. Nach 24 und 48 Std wurde Blut entnommen, die Plasmalipoide in Petrolätherbenzol 14 : 1 aufgenommen, auf 4 cm³ eingeengt und in 1 cm³ fassenden Schälchen mit gleicher Schichtdicke in der Bleikammer mit Zählrohr für β-Strahlen bei einer gleichbleibenden Zählrohrspannung von 1000 V die Impulse pro Minute gemessen. Als Maß für die Einbaugeschwindigkeit wurde folgender Quotient gewählt:

$$\frac{\text{Impulse/min} \times \text{Körpergewicht/kg}}{\text{Leberphosphatide/mg\%}}.$$

Gleichzeitig erfolgte die zweite Bestimmung der Lipoide im Blutplasma. Da der injizierte radioaktive Phosphor erst nach 8 Wochen vollständig eliminiert ist, konnte mit dem eigentlichen Versuch erst nach Ablauf dieser Zeit begonnen werden. Die erste Gruppe von 14 Hunden wurde 5 Tage lang mit 3 cm³ CCl_4/kg/Tag durch die Schlundsonde vergiftet. Anschließend erholten sich die Tiere 8 Tage. 4 Hunde dieser Gruppe erhielten während der Erholung täglich 10 g Inosit intravenös, 3 Hunde 10 g Invertzucker und 4 Tiere dienten zur Kontrolle, 3 Hunde starben auf der Höhe der Vergiftung. Am 7. Erholungs- bzw. Behandlungstag wurde durch Injektion von radioaktivem Phosphor die Einbaugeschwindigkeit des P^{32} in die Blutlipoide wie vorher bestimmt. Die Gruppe II umfaßte 11 Tiere, die 6 Tage lang vergiftet, aber nur 3 Tage lang behandelt wurden. 3 Tiere bekamen in dieser Zeit 5 g Methionin (Merck) i.v., 3 Hunde 5 g Methionin + 25 g Invertzucker. Nach Abschluß der Erholung bzw. Behandlung wurden die Tiere getötet und die Blut- und Leberlipoide noch einmal bestimmt.

Ergebnisse.

Die Veränderungen der Leberlipoide in Gruppe I sind in Tab. 1 zusammengestellt. In der Reihe A erscheinen die Werte der gesunden Lebern vor dem Versuch, unter a die Werte auf der Höhe der Vergiftung, unter B die Werte nach dem Abschluß der Erholung bzw. Behandlung.

Tabelle 1. *Leberlipoide in Versuchsgruppe I.*

	Zahl der Tiere	Trockensubst. in % der Frischsubstanz	Gesamtlipoide	Phosphatide	Cholesterinester	Freies Cholesterin	Neutralfette	Freie Fetts.	Kohlenwasserstoffe u. Wachse	Unbekannte Substanz
			In mg pro 1 g Trockensubstanz							
Nach Vergiftung A	3	28	179,4	92,9	5,2	7,1	27,0	34,6	5,0	8,4
a		28,2	301,3	81,5	20,8	13,9	128,7	26,1	9,2	21,1
Nach 6 Tagen A	4	27,3	149,7	81,3	4,1	6,1	17,1	27,2	4,7	8,1
Erholung B		27,6	179,0	99,2	8,4	2,9	20,1	25,9	7,2	15,4
6 Tage m. Inositol A	4	29,0	161,2	111,2	6,9	5,4	19,7	2,3	7,8	9,0
10 g/Tag behand. B		29,9	131,0	62,3	5,2	5,0	14,2	25,9	3,9	6,6
6 Tage mit In- A		27,8	155,8	76,6	6,3	7,9	18,0	30,6	4,8	9,9
vertzucker	3									
10 g/Tag behand. B		26,1	190,1	112,1	11,2	0,9	25,6	22,7	6,3	13,5

Unter der Vergiftung kommt es zu einem erheblichen Anstieg der Gesamtlipoide, vor allem der Neutralfette. Gleichzeitig sind die Cholesterin-Ester, das freie Cholesterin, die Kohlenwasserstoffe und Wachse und eine noch unbekannte Lipoidfraktion angestiegen. Die Phosphatide sinken ab. Nach sechstägiger Erholung liegen die Gesamtlipoide, Phosphatide, Neutralfette, Cholesterin-Ester, die Kohlenwasserstoffe und Wachse sowie die unbekannte Substanz noch über den Ausgangswerten. Vor allem die Neutralfette sind aber gegenüber den Werten während der Vergiftung abgesunken, während die Phosphatide höher liegen. Unter Inosit ist die Senkung der unter der Vergiftung angestiegenen Lipoidwerte deutlich höher und umfaßt die Phosphatide mit. Das trifft für den Invertzucker nicht zu. Seine Wirkung äußert sich hier nur in einer Erhöhung der Leberphosphatide. Im übrigen entsprechen die Werte denen der unbehandelten Tiere.

Das gleichzeitige Verhalten der Blutlipoide geht aus der folgenden Tab. 2 hervor. In den Zeilen A, a, B sind die Werte vor der Vergiftung, auf der Höhe derselben und nach Erholung bzw. Behandlung eingetragen. Die Werte korrespondieren so mit denen der Tab. 1. Unter der

Tabelle 2. *Blutlipoide in Versuchsgruppe I.*

		Gesamtlipoide	Phosphatide	Cholesterinester	Freies Cholesterin	Neutralfett	Freie Fettsäuren	Kohlenwasserstoffe u. Wachse	Unbekannte Substanz
		In mg % des Serums							
Unbehandelt	A	738,8	365,1	118,8	29,3	97,3	43,3	41,8	58,6
	a	474,9	134,9	80,7	26,3	121,9	1,2	38,5	54,5
	B	850,1	581,7	56,8	11,0	86,3	2,8	26,2	51,4
Inositol	A	705,3	355,5	101,4	22,8	136,5	10,7	27,2	59,7
	a	685,7	351,4	90,7	21,1	140,1	0,7	29,7	63,1
	B	900,5	627,9	62,1	28,2	79,7	4,7	75,9	76,3
Invertzucker	A	834,6	360,4	146,9	28,6	132,3	33,6	40,5	58,7
	a	688,9	233,5	111,3	32,0	112,1	21,9	44,1	71,6
	B	875,3	535,9	45,0	18,6	106,4	28,7	80,9	67,5

Vergiftung sinken die Gesamtlipoide, die Phosphatide und Cholesterin-Eester ab. In der Erholungszeit steigen die Phosphatide bis über den Ausgangswert. Quantitativ ähnlich verhalten sich die Werte unter Invertzuckerbehandlung, während das Inositol den Phosphatidanstieg vergrößert und die Neutralfette stärker senkt. Das gegensinnige Verhalten der Blut- und Leberlipoide und die Wirkung des Inosit gehen aus den folgenden Abb. 1 und 2 hervor.

Man sieht, daß Anstieg der Gesamtlipoide und Neutralfette in der Leber Abfall der Phosphatide und Gesamtlipoide im Blut bedeuten. Anstieg der Blutphosphatide geht mit einem Abfall der Leber- Neutralfette und -Phosphatide einher. Inosit beschleunigt die nach der Vergiftung eintretenden Reparationsvorgänge: Abtransport der Leberneutralfette durch Umbau derselben in Phosphatide und deren Ausschwemmung ins Blut.

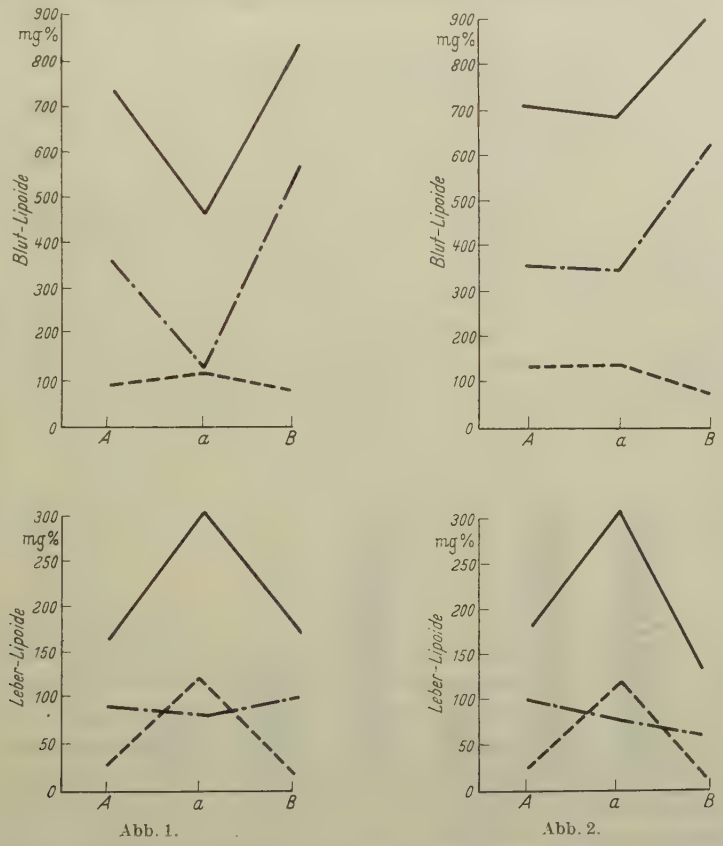


Abb. 1. Abb. 2.

Abb. 1. Im oberen Teil der Abbildung ist das Verhalten von Gesamtlipoiden ( ), Phosphatiden (· · ·) und Neutralfetten (— · — ·) während Tetrachlorkohlenstoffvergiftung und der nachfolgenden Erholung zu sehen. Im unteren Teil der Abbildung ist das entsprechende Verhalten der Leberlipoide dargestellt. Die Bezeichnungen *A*, *a*, *B* auf der Ordinate entsprechen denen in Tab. 1 – 4. Sie geben das Versuchsstadium an.

Abb. 2. Die Kurven geben den gleichen Vorgang wie Abb. 1 unter Einwirkung von Inositol wieder.

In Gruppe II wurden die Hunde 6 Tage lang vergiftet und konnten sich nur 3 Tage erholen. Man sieht aus Tab. 3, daß nach der Erholung die Gesamtlipoide, die Cholesterin-Ester, das freie Cholesterin, die Neutralfette und die freien Fettsäuren noch über den Ausgangswerten liegen,

die Phosphatide haben diesen praktisch schon wieder erreicht. Welche Entwicklung die Leberlipoide in der Erholungszeit durchgemacht haben, sieht man aus einem Vergleich mit den Werten der auf der Höhe der Vergiftung gestorbenen Tiere. Bei ihnen sind die Gesamtlipoide stark erhöht, die Phosphatide abgesunken, die Neutralfette fast auf das 5fache gesteigert. Die Wirkung von Methionin und Methionin-Invertzucker äußert sich vor allem in einer Steigerung des Leberphosphatidgehalts.

Tabelle 3. *Leberlipoide in Versuchsgruppe II.*

		Zahl der Tiere	Trockensubst. in % der Frischsubstanz	Gesamtlipoide	Phosphatide	Cholesterinester	Freies Cholesterin	Neutralfette	Freie Fettsäuren	Kohlenwasserstoffe u. Wachse	Unbekannte Substanz
				In mg pro 1g Trockensubstanz							
Nach 6 Tagen	A	2	33,3	169,5	71,2	2,8	9,1	24,5	40,0	4,3	11,0
Vergiftung	a		41,9	244,6	49,8	15,4	9,8	118,0	12,9	14,6	19,1
Nach 3 Tagen	A	3	36,3	137,1	87,6	5,6	2,8	26,5	0,6	6,3	7,8
Erholung	B		28,0	156,0	86,1	8,2	7,8	28,4	73,5	7,4	6,4
Methionin	A	3	35,3	134,2	35,9	3,2	7,6	16,5	53,7	5,8	11,2
5 g/Tag	B		36,2	251,9	54,6	7,9	10,2	80,1	59,4	10,1	26,9
Methionin 5 g/Tg. Invertzucker	A	3	34,6	129,7	42,5	4,1	5,9	23,9	32,5	6,3	18,2
25 g/Tag	B		33,7	200,1	59,2	5,1	7,5	58,9	51,5	6,9	10,4

Entsprechend dem Antagonismus der Blut- und Leberlipoide, wie er schon in Gruppe I gefunden wurde, findet man auch bei den Tieren der Gruppe II im Blut unter der Vergiftung ein Absinken aller Fraktionen außer den Cholesterin-Estern. Nach der kurzen Erholungszeit von nur 3 Tagen ist der Blut-Lipoidstoffwechsel jedoch noch schwer gestört, die Gesamtlipoide und Phosphatide sind weiter abgesunken, außerdem auch die Cholesterin-Ester. Nur die Neutralfette steigen an. Das Bild unter der Einwirkung von Methionin und Methionin-Invertzucker ist anders. Zwar sinken auch hier die Gesamtlipoide nach Absetzen des CCl_4 noch weiter ab, aber auf Grund einer Erniedrigung des Neutralfettgehaltes. Die Phosphatide sind dagegen lebhaft angestiegen.

Aufschlußreich für die Intensitätssteigerung des Phosphatidstoffwechsels durch die lipotropen Substanzen sind die Versuche mit P^{32}. Aus Abb. 3 geht zunächst hervor, daß bei den gesunden, vor dem Versuch getesteten Tieren eine bestimmte Menge P^{32} nach 24 Std in die Plasmaphosphatide eingebaut ist. Weitere 24 Std später hat ein Teil des P^{32} die Plasmaphosphatide bereits wieder verlassen. Bei den vergifteten, aber

Tabelle 4. *Blutlipoide in Versuchsgruppe II.*

		Gesamtlipoide	Phosphatide	Cholesterinester	Freies Cholesterin	Neutralfette	Freie Fettsäuren	Kohlenwasserstoffe u. Wachse	Unbekannte Substanz
		In mg % des Serums							
Unbehandelt	A	1000,3	615,6	86,2	22,2	137,7	10,7	66,4	56,1
	a	814,8	566,4	101,4	19,1	67,3	0,0	37,9	45,9
	B	772,4	498,7	59,1	23,1	79,4	16,9	12,9	48,9
Methionin 5 g/Tag	A	614,2	285,8	109,5	29,5	101,9	29,1	25,2	50,3
	a	533,9	131,4	61,8	28,4	142,0	43,9	47,9	90,9
	B	493,6	261,7	76,6	32,9	79,3	0,1	25,5	29,4
Methionin 5 g/Tag	A	849,0	446,7	153,6	42,1	110,6	40,9	35,0	56,7
Invertzucker 25 g/Tag	a	613,1	268,4	97,2	38,7	121,9	0,0	35,5	59,1
	B	586,4	317,5	81,8	32,3	66,9	4,4	26,0	42,2

unbehandelten Tieren ist die Einbaugröße nach 24 Std zwar etwas geringer als vorher, aber sie wächst in den nächsten 24 Std noch. Eine deutliche Steigerung erfährt die P^{32}-Verwertung in der Phosphatidsyn-

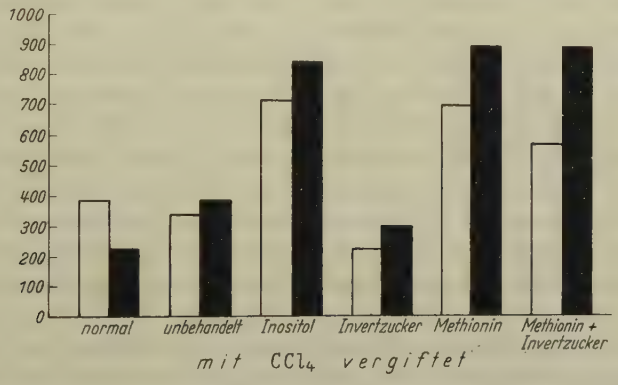


Abb. 3. Relative Einbaugeschwindigkeit radioaktiven Phosphors 24 (□) bzw. 48 (■) Std nach intravenöser Gabe von $H_3P^{32}O_4$ unter Einwirkung lipotroper Substanzen

Auf der Abszisse sind die Werte für den Quotienten

$$q = \frac{\text{Impulse/min} \times \text{Körpergewicht/kg}}{\text{Leberphosphatide/mg\%}}$$

angegeben.

these durch das Inositol. Bei Invertzucker fehlt sie. Die gleiche Steigerung beobachtet man unter Methionin. Die Wirkung des Methionin wird in dieser Hinsicht nicht durch den gleichzeitig gegebenen Invertzucker gesteigert.

Besprechung der Ergebnisse.

Die gleichzeitig im Blut und Leber sowie während der Entwicklung der experimentellen mit CCl_4 gesetzten Lipoidstoffwechselstörung verfolgten Veränderungen der einzelnen Lipoidfraktionen erlauben nunmehr einige sichere Aussagen über den funktionalen Zusammenhang der Leber- und Blutlipoide. Aus Analogieschlüssen zwischen den an der Ratte gefundenen Lipoidveränderungen an der Leber und an den am Hund studierten des Blutes war ein solcher Zusammenhang anzunehmen. Im Mittelpunkt stehen die Neutralfette und Phosphatide. Wie wir aus der Analyse menschlicher Lebern bei Lebercirrhosen, Säuglingsdystrophie, subakuter gelber Leberdystrophie und auch von der mit einer an lipotropen Stoffen armen Kost ernährten Ratte wissen, ist das Hauptsymptom der Leberfettstoffwechselstörung der Anstieg der Neutralfette und der Abfall der Phosphatide. Beim CCl_4-vergifteten Hund steigen gleichzeitig mit den Neutralfetten die Cholesterinester freien Cholesterine und eine noch unbekannte Lipoidsubstanz erheblich an. Da die drei zuletzt genannten Fraktionen gleichzeitig im Blut absinken, muß an eine Störung ihrer Abgabe aus der Leber in das Blut gedacht werden. Ein Antagonismus der Neutralfette besteht zu den Phosphatiden. Diese fallen im Laufe auch der experimentellen Lipoidstoffwechselstörung ab. Wir deuten diese Erscheinung wie Stetten und Salcedo[4] auf Grund ihrer Versuche mit Fettsäuren, die mit schwerem Wasser markiert waren, folgendermaßen: In der geschädigten Leber versagt die Funktion, die ihr zuströmenden Neutralfette in Phosphatide umzubauen. Das Neutralfett steigt in der Leber an, die Phosphatide sinken ab. Gleichzeitig spiegelt sich dieser gestörte Mechanismus auch im Blut. Hier steigen die Neutralfette an. Dafür können zwei Gründe vorliegen. Entweder gibt die Leber unverarbeitetes Neutralfett an das Blut ab oder — was wahrscheinlicher ist — die mit Neutralfett überfüllte Leber kann das Angebot aus dem Verdauungskanal und aus den peripheren Fettdepots nicht mehr annehmen. Im Einklang mit dieser Vorstellung und mit früheren Untersuchungen über die Cholinhaltigen Phosphatide[1] steht das starke Absinken der Phosphatide, das dem Grad der Lipoidstoffwechselstörung parallel geht. Die nachlassende Phosphatidsynthese der Leber führt zur Verarmung des Blutes an Phosphatiden, die zum Zellaufbau oder zur energetischen Verwendung diesem ständig entnommen werden.

Bei der Rückbildung der Lipoidstoffwechselstörung liegen die Verhältnisse jetzt ebenfalls klar. Die während der Schädigung in die Leber eingelagerten Neutralfette werden in Phosphatide umgebaut, der Gehalt der Leber an Neutralfetten sinkt, der Phosphatidgehalt steigt. Die starke Phosphatidsynthese spiegelt sich im Anstieg der Blutphosphatide auf fast das 5fache bei 6 Tagen Erholung. Die Neutralfette des Blutes sinken ab, denn die Leber kann sie nun wieder zum weiteren Umbau aufnehmen.

Auf die reparativen Vorgänge im Stadium der Ausheilung eines experimentell gesetzten Lipoidstoffwechselschadens haben die lipotropen Substanzen einen deutlichen Einfluß. Die Bedeutung des Cholins ist bereits gut untersucht. Über das Inositol wissen wir noch wenig. Aber einige Befunde sprechen dafür, daß es im menschlichen Organismus auch inosithaltige Phosphatide gibt, bei deren Synthese Inosit als Baustein die gleiche Bedeutung hat wie Cholin für den Aufbau von Sphingomyelin und Lecithin.

Inosithaltige Phosphatide fand man im Tuberkelbacillus[5] und in der Sojabohne[6]. Im Gehirn findet sich Inositol mit Phosphatiden, die in der Cephalinfraktion auftreten[7]. Die Verbindung ist ein Diphosphorsäureester in Metastellung. Ob das im Herzmuskel, Leber, Schilddrüse, Niere, Milz und Hoden vorkommende Inositol auch in einer Phosphorsäure-Fettsäureverbindung vorliegt, ist noch unbekannt. Der lipotrope Effekt ist von Best quantitativ untersucht worden, nachdem er schon vorher prinzipiell erkannt war. Auch am Menschen konnte seine lipotrope Wirkung bestätigt werden. Nach Bests[8] Untersuchungen können Cholin und Inositol sich nicht voll ersetzen. Ihre Wirkungen summieren sich, d. h. ihr Wirkungsmodus ist verschieden. Auffallend ist, daß Inositol im Gegensatz zu Cholin nicht auf die Fettleber wirkt, die durch Fettzufuhr erzeugt ist.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß Inosit außerordentlich prompt in die Phosphatidsynthese eingreift. Der in der Erholungszeit nach CCl_4-Vergiftung einsetzende Abfall der Leber- und Blutneutralfette und der gleichzeitige Anstieg der Leber- und Blutphosphatide wird durch Inositol verstärkt. Das gleiche gilt für das Methionin. Im Gegensatz zu Befunden an der sehr stoffwechselaktiven Ratte hat Invertzucker beim CCl_4-Hund nur einen geringen Effekt. Es hat nicht den Anschein, daß der Inverzuckert zu den lipotropen Substanzen gehört. Seine gelegentlich zu beobachtende die Phosphatidsynthese steigernde Wirkung ist unsicher und unterstützt auch nicht immer die Methioninwirkung.

Die hier vorgetragenen Ansichten über die Beziehungen der Blut- und Leberlipoide zueinander und den Einfluß der lipotropen Substanzen auf diese Beziehung werden durch Versuche mit radioaktivem Phosphor besonders gestützt. Wenn man Hunden P^{32} i. v. injiziert, so haben nach einer bestimmten Zeit die cholinhaltigen Phosphatide der Leber eine bestimmte Radioaktivität. Sie ist höher, wenn die Hunde gleichzeitig Cholin bekommen, d. h. durch Cholin wird die Synthese cholinhaltiger Phosphatide beschleunigt[9]. Als Ausdruck dieser Beschleunigung wird mehr P^{32} verbraucht. Am Menschen kann man an der Radioaktivität eines Alkohol-Ätherextraktes des Plasmas nach P^{32}-Injektion ein Maß für den Umsatz von P^{32} gewinnen. Die Versuche haben gezeigt, daß sich bei der Fettleber mit Cholin die gegenüber Gesunden erniedrigte Einbauquote von P^{32} steigern läßt.[10] Unsere Versuche zeigen, daß vom gesunden Hund 24 Std nach einer definierten Gabe von P^{32} eine bestimmte Menge Phosphor in die Blutphosphatide eingebaut ist. Weitere 24 Std später

hat ein Teil dieses Phosphors die Lipoide, die wahrscheinlich in dieser Zeit weiter abgebaut worden sind, wieder verlassen. Bei einer Schädigung des Leber-Lipoidstoffwechsels ist die nach 24 Std eingebaute Menge P^{32} geringer. Auch in der Erholungszeit ist die Einbaugeschwindigkeit noch träge. Das sieht man daran, daß die Einbaugröße nach 24 Std noch niedrig liegt, daß aber nach 48 Std die Blutphosphatide noch stark P^{32}-haltig sind. Dieser Effekt wird durch Inositol und Methionin stark gesteigert. Es wird eine wesentlich größere Menge P^{32} in 24 Std in die Blutphosphatide eingebaut. Da sich die Phosphatidsynthese und Ausschüttung ins Blut noch täglich steigert, wächst auch die P^{32}-Konzentration. Deswegen liegt im Gegensatz zum gesunden Tier die Einbaugröße nach 48 Std in der Reparationsphase höher als nach 24 Std.

Zusammenfassung.

1. An 25 Hunden werden die Leber- und Blutphosphatide während der Tetrachlorkohlenstoffvergiftung verfolgt. In der Leber und im Blut steigen die Neutralfette an, die Phosphatide sinken ab.

2. Während der Erholung nach der Vergiftung sinken die Neutralfette der Leber ab, weil sie in Phosphatide umgebaut werden. Der Phosphatidgehalt in Leber und Blut steigt. Dieser Vorgang wird durch Inositol und Methionin beschleunigt.

3. Versuche mit P^{32} zeigen, daß unter der Wirkung von Inositol und Methionin mehr Phosphor für die Phosphatidsynthese verbraucht wird.

Literatur.

[1] Hartmann, F., u. F. Leuschner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 167 (1951). — [2] Hartmann, F., R. Hertel, G. Schulze u. R. Wellmer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **214**, 152 (1952). — [3] Schulze, G., Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **214**, 473 (1952). — [4] Stetten, D. J., and I. Salcedo: J. of Biol. Chem. **156**, 27 (1944). — [5] Anderson, R. I.: Amer. Chem. Soc. **52**, 1607 (1930). — [6] Klenk, E., u. R. Sakai: Z. physiol. Chem. **258**, 33 (1939). — [7] Folch, I., and D. W. Wolley: J. of Biol. Chem. **142**, 963 (1942). — [8] Best, C. H., C. C. Lucus, J. M. Patterson and J. H. Ridont: Biochemic. J. **40**, 368 (1946). — [9] Entenmann, C., I. L. Chaikoff and A. N. Friedländer: J. of Biol. Chem. **162**, 111 (1946). — [10] Cayer, D., and W. E. Cornatzer: J. Clin. Invest. **22**, 542 (1950).

Dr. G. Schulze, Göttingen, Medizinische Universitäts- und Poliklinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 107—129 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg/Br.
(Direktor: Prof. Dr. S. Janssen)
und dem staatl. Forschungsinstitut für makromolekulare Chemie Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. H. Staudinger).

Über die Pharmakologie von wasserlöslichen Polysacchariden und Polysaccharidderivaten.

Von
M. Wiedersheim und W. Hertlein
und von
E. Husemann und R. Lötterle.

Mit 19 Textabbildungen.

(Eingegangen am 27. Juni 1952.)

Die therapeutische Anwendung makromolekularer Stoffe nimmt ständig zu, dementsprechend auch das Interesse an ihren pharmakologischen Eigenschaften. Es besteht das Bestreben, diese Stoffe als Ersatz für die Bluteiweißkörper zu verwenden (Periston, Dextran) bzw. sie so reizlos zu gestalten, daß sie als Trägerstoffe die Resorption von Medikamenten verzögern (Depotwirkung). Weitere Anwendung finden sie zur Herstellung von Suspensionen und Emulsionen und schließlich auf Grund von spezifischen Wirkungen zur Verhinderung der Blutgerinnung (Thrombocid). In die gleiche Gruppe sind die fiebererzeugenden Stoffe der Bakterien einzuordnen, deren Konstitution zwar unbekannt ist, von denen man aber weiß, daß ihre wirksamen Komponenten hochmolekulare Kohlenhydrate sind.

Es ist charakteristisch für makromolekulare Substanzen, daß sie durch ihre chemische Zusammensetzung nicht eindeutig definiert werden können. Von jedem makromolekularen Stoff existiert nicht nur *ein* chemisches Individuum wie bei niedermolekularen Stoffen, sondern jeweils eine polymerhomologe Reihe, deren einzelne Glieder sich durch ihr Molekulargewicht bzw. ihren Polymerisationsgrad unterscheiden. Außerdem können die Moleküle fadenförmige, verzweigte oder kugelförmige Gestalt besitzen. Darüber hinaus läßt sich durch geeignete Substitutionen der chemische Charakter der Substanzen in weiten Grenzen verändern, z. B. durch Einführung homöopolarer oder heteropolarer Gruppen in das gleiche Grundskelet.

Die besondere Bedeutung dieser Stoffe zur Aufklärung der Zusammenhänge zwischen Größe und Gestalt der Moleküle, Art der Substituenten und pharmakologischer Wirkung besteht darin, daß es möglich ist, jeweils nur *einen* Faktor kontinuierlich zu verändern.

Diese Überlegungen haben sich bei den Untersuchungen von Polysaccharidschwefelsäureestern bewährt, wo eindeutige Zusammenhänge zwischen der Größe und Gestalt der Moleküle und ihrer Wirkung auf die Blutgerinnung sowie ihrer Toxizität festgestellt wurden[1].

Auf Grund dieser Erkenntnisse untersuchten wir in gemeinsamer Arbeit zwischen Chemiker und Pharmakologen verschiedene wasserlösliche Polysaccharide und ihre Derivate auf ihre pharmakologischen Wirkungen im Tierexperiment. Unser Bestreben ging dahin, an exakt definierten Modellsubstanzen den Einfluß der einzelnen Faktoren wie Molekülgröße, Molekülform und Ladung getrennt kennenzulernen und damit Anhaltspunkte für eine therapeutische Verwendungsmöglichkeit zu gewinnen.

Die von uns untersuchten *Stoffe* gliedern sich in 4 Gruppen:

I. Fadenförmige homöopolare Substanzen ohne elektrische Ladung, insbesondere *Methylcellulosen* verschiedener Kettenlängen, deren Grundmolekül methylierte Glucose ist; *Xylan*, das aus Xylose aufgebaut ist; *Mannan*, das aus Mannose besteht. Alle aufgeführten Substanzen sind wasserlöslich. Für diese Stoffe besitzt der tierische Organismus keine spezifischen hydrolysierenden Fermente, möglicherweise findet ein langsamer oxydativer Abbau im Körper statt.

II. Fadenförmige stark heteropolare Substanzen mit starker elektrischer Ladung, insbesondere *Cellulose-Schwefelsäureester* mit dem Grundmolekül aus sulfurierter Glucose; *Xylanschwefelsäureester*, bestehend aus sulfurierter Xylose. Beide Stoffe wurden in verschiedenen Polymerisationsgraden, die Xylanschwefelsäureester auch in verschiedenen Substitutionsgraden untersucht.

III. Fadenförmige schwach heteropolare Substanzen mit geringer elektrischer Ladung: *Cellulose-Glycolsäureäther* in verschiedenen Polymerisationsgraden, bestehend aus dem Natriumsalz von Carboxyläthylglucose.

IV. Stark verzweigte homöopolare Substanzen: *Glykogen* und *Dextran* in verschiedenen Polymerisationsgraden. Beide Stoffe haben Glucose als Grundsbaustein. *Methylamylopektin* bestehend aus methylierter Glucose.

Die chemische Darstellung dieser Stoffe wird in der Zeitschrift für makromolekulare Chemie veröffentlicht. In einzelnen Versuchen wurde die Wirkung dieser Stoffe mit der von Periston und Pyrifer verglichen.

Tabelle 1 und Abbildung 1 geben eine Übersicht über die chemischen und physikalichen Eigenschaften der untersuchten Substanzen.

Die *pharmakologischen* Prüfungen erstreckten sich auf die Untersuchung des weißen Blutbildes, der Blutsenkungsreaktion und der Körpertemperatur. Im weiteren Verlauf wurden dann noch der arterielle und venöse Blutdruck gemessen und an der Rattenpfote die Resorptionsgeschwindigkeit der durch lokale Injektion hervorgerufenen Ödeme beobachtet.

Versuchstiere waren vorwiegend Kaninchen. Alle untersuchten Stoffe wurden in physiologischer Kochsalzlösung in 1%iger Konzentration gelöst und intravenös eingespritzt nachdem sich herausgestellt hatte, daß die subcutane und intramuskuläre Injektion in den gleichen Mengen wie bei der intravenösen Injektion keine Wirkung auf Blutbild, Senkung und Körpertemperatur hervorrief.

1. Die Beeinflussung des weißen Blutbildes.

Als pharmakologischen Effekt wählten wir zunächst in Anlehnung an die Arbeiten von STAUB, BUCHER und anderen Autoren[2] die Wirkung

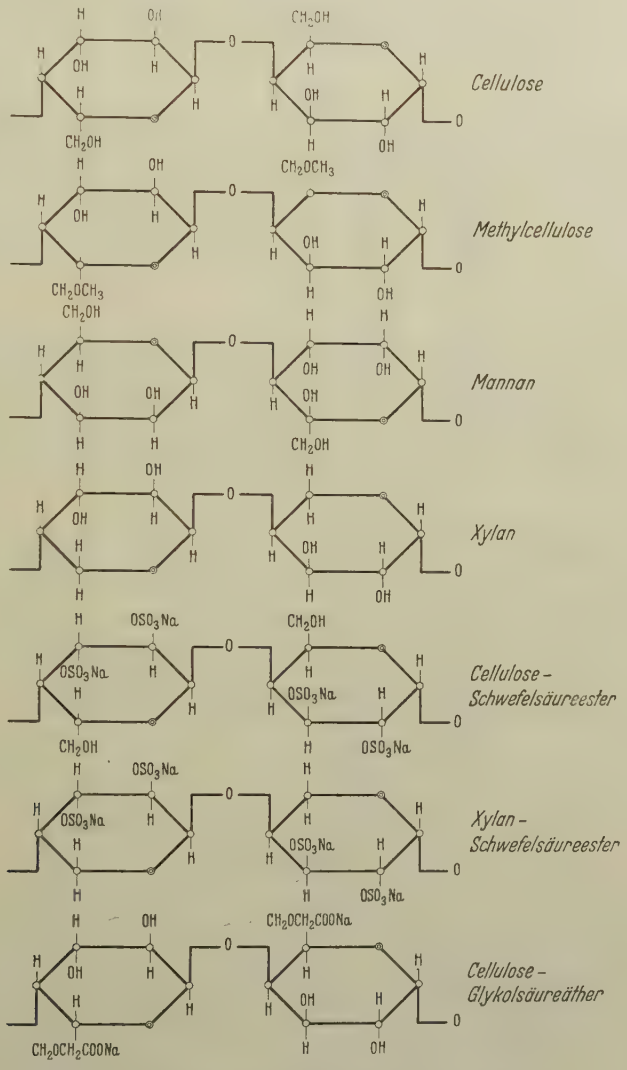


Abb. 1. Konstitutionsformeln der untersuchten Substanzen.

dieser Stoffe auf das weiße Blutbild des Kaninchens, da hier Anhaltspunkte für den Einfluß des Molekulargewichtes vorlagen.

Methodik.

Die zu prüfenden Substanzen wurden Kaninchen in die Ohrvene eingespritzt. Wir zählten die Blutkörperchen in der Thoma-Zeiss-Zählkammer nach dem klinisch üblichen Verfahren, machten bei jeder Blutentnahme 2 Blutabstriche und färbten nach Pappenheim. Die Versuchsdauer betrug durchschnittlich 180 min. In dieser Zeit wurde bei allen Tieren in der 10., 30., 60., 120. und 180. min Blut entnommen.

Tabelle 1.

Substanz	Polym.-Grad	Molekular-Gewicht	Polarität	Verzweigung	Schwefel in Prozent
Methylcellulose . .	500	85 000	homöopolar	unverzweigt	—
„	360	66 000	„	„	—
„	324	59 300	„	„	—
„	165	30 000	„	„	—
„	50	8 500	„	„	—
„	12	2 200	„	„	—
Mannan	400	64 800	„	„	—
Xylan	100	13 200	„	„	—
Cellulose-schwefelsäureester .	500	180 000	stark heteropolar	„	18
„	13	5 000	„	„	18
Xylan-schwefelsäureester .	100	33 600	„	„	18
„	50	16 000	„	„	18
„	15	5 300	„	„	
Cellulose-glykolsäureäther . .	600	144 000	schwach heteropolar	„	—
„	200	48 000	„	„	—
„	50	12 000	„	„	—
Glykogen	8000	1296 000	homöopolar	stark verzweigt	—
„	200	32 400	„	„	—
Dextran	1000	162 000	„	„	—
„	100	16 200	„	„	—
Methylamylopektin .	200	39 000	„	„	—
Periston	100	15 400	schwach	unverzweigt	—
„	170	26 800	heteropolar	„	—

Diese Zeiteinteilung ergab sich im Verlauf der Untersuchungen aus dem Verhalten der Leukocytenwerte. Bei Kochsalz- und Leerversuchen zeigten die Leukocyten bei Blutentnahmen im Abstand von 2 min starke Schwankungen, die sich in der 8.—10. min wieder ausglichen. Auch eine schonende Blutentnahme konnte diese Schwankungen in den ersten Minuten nicht ausschalten. Substanzspezifische Veränderungen der Leukocytenwerte wurden daher erst von der 10. min an gewertet und nur als Wirkung der Substanzen angesehen, wenn die Differenz der weißen Blutzellen mehr als 2000 pro cmm^3 betrug. In den folgenden Kurven bezeichnen die ausgezogenen Linien die Gesamtzahl der Lymphocyten und Granulocyten, die gestrichelte Linie die Granulocytenwerte, die durch Differenzierung der Blutausstriche erhalten wurden. Die Differenz zwischen den beiden Linien ergibt die Anzahl der Lymphocyten.

Ergebnisse.

I. Gruppe: Fadenförmige homöopolare Substanzen.

A. Es wurden 4 verschiedene *Methylcellulosen* untersucht, die sich im Polymerisationsgrad bzw. Molekulargewicht und damit in ihrer Länge unterschieden. Die physikalischen Eigenschaften zeigt Tab. 2.

Tabelle 2.

Substanz Nr.	Polym. Grad	Mol.-Gew.	Länge in Ångström	Breite in Ångström
1	410	75 000	2200	5—10
2	367	67 200	1800	5—10
3	40	7 320	200	5—10
4	17	3 250	90	5—10

Die Substanzen sind homöopolar, haben dementsprechend keine Ladung und dissoziieren nicht. Sie sind alle stark oberflächenaktiv.

Alle untersuchten Methylcellulosen riefen eine Leukopenie mit nachfolgender überschießender Leukocytose hervor. Das Ausmaß dieser Leukopenie war vom Polymerisationsgrad unabhängig, es bestand jedoch

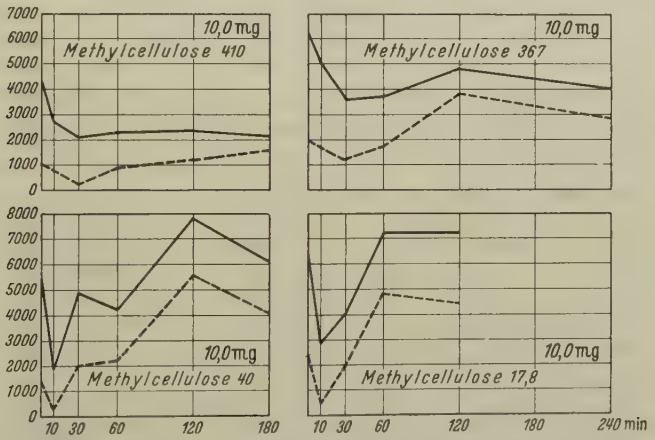


Abb. 2. Leukopenie nach Injektion von 10,0 mg/kg Methylcellulose. ——— Gesamtzahl der Leukocyten. — — — Granulocyten.

eine Abhängigkeit hinsichtlich ihrer Dauer. Bei niederpolymeren Methylcellulosen war der Leukopenie-Effekt kurz, bei hochpolymeren Methylcellulosen dauerte er 2—3 Std.

Weiterhin untersuchten wir den Einfluß der Dosierung. Bei abnehmender Menge veränderte sich die Qualität der Reaktionen nicht. Erst

bei 0,5 mg/kg Tier wurde die Veränderung des Blutbildes uncharakteristisch. Eine höhere Dosierung bis 20 mg/kg zeigte keine Verstärkung der Reaktion.

Da der Verdacht bestand, daß die Leukopenien eine Folge von Verunreinigungen sind, verglichen wir die Wirkung einer technischen und einer besonders sorgfältig gereinigten Methylcellulose mit dem Polymerisationsgrad 367. Die Ergebnisse waren identisch.

Staub und Bucher[3] beobachteten im Blutbild der Durchströmungsflüssigkeit am Herz-Lungen-Präparat nach Zufuhr hochmolekularer Stoffe wie Tragant, Glykogen und Gummiarabicum eine Leukopenie und führten diese auf eine Retention der Leukocyten in den Lungencapillaren zurück. Wir haben mit einer Methylcellulose 367 diese Versuche an 3 verschiedenen Herz-Lungen-Präparaten wiederholt und fanden die gleichen Ergebnisse.

B. *Mannan* und *Xylan* sind gleichfalls homöopolare Stoffe; sie haben keine Dissoziationsfähigkeit, sind aber im Gegensatz zu den Methylcellulosen nicht oberflächenaktiv.

Tabelle 3.

Substanz	Polym.-Grad	Mol.-Gew.	Länge in Ångström	Breite in Ångström
1. Mannan . .	400	64 800	2000	5—10
2. Xylan . .	100	13 200	500	5—10

Infolgedessen gestattet ein Vergleich mit den Methylcellulosen die Entscheidung, ob bei gleichbleibenden physikalischen Dimensionen die Oberflächenaktivität die Wirkung auf das weiße Blutbild beeinflußt. Dieses war nicht der Fall. Bei einer Dosierung von 10 mg/kg Kaninchen

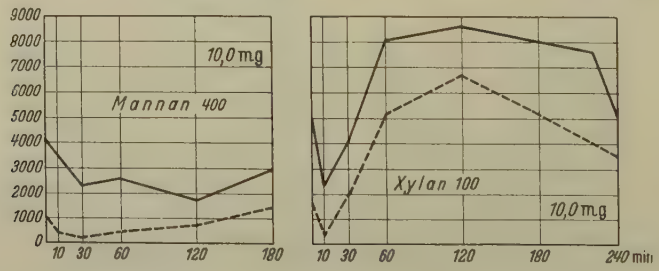


Abb. 3. Leukopenie nach Injektion von 10,0 mg/kg Mannan und Xylan. ——— Gesamtzahl der Leukocyten. — — — Granulocyten.

beobachtete man dieselbe starke Leukopenie. Sie klang bei dem niederpolymeren Xylan rascher ab und dauerte bei dem hochpolymeren Mannan 2—3 Std. Das Verhältnis von Granulocyten zu Lymphocyten war nicht gestört.

II. Gruppe: Fadenförmige stark heteropolare Substanzen.

A. *Celluloseschwefelsäureester* sind stark heteropolare Stoffe mit negativer Ladung. Es wurden Präparate mit den Polymerisationsgraden 500 und 13 untersucht.

Tabelle 4.

Substanz Nr.	Polym.-Grad	Mol.-Gew.	Länge in Ångström	Breite in Ångström
1	500	180 000	3000	5—10
2	13	5 100	65	5—10

Während der Celluloseschwefelsäureester 13 in der Dosierung von 10 mg/kg eine Leukocytose vorwiegend der Lymphocyten hervorruft, erwies sich das Präparat mit dem Polymerisationsgrad 600 von hoher, stark schwankender Toxizität. Bei 10 und 5 mg/kg starben einzelne Versuchstiere, erst die Dosis von 2,5 mg/kg wurde von allen Tieren vertragen, wobei in einigen Fällen eine Leukopenie mit anschließender Leukocytose oder eine Leukocytose mit Überwiegen der Lymphocyten beobachtet wurde.

B. *Xylanschwefelsäureester*. Die hohe Toxizität des hochpolymeren Celluloseschwefelsäureesters veranlaßte uns, ergänzend Xylanschwefelsäureester zu untersuchen, die therapeutisch von Bedeutung sind. Sie sind viel weniger toxisch und wurden mit einem Polymerisationsgrad von 15, 50 und 100 (Tab. 5) in einer Dosierung von 10 mg/kg untersucht. Höhermolekulare Xylanschwefelsäureester sind nicht darstellbar, weil Xylan selbst nur einen Polymerisationsgrad von 150 hat.

Tabelle 5.

Substanz Nr.	Polym.-Grad	Mol.-Gew.	Länge in Ångström	Breite in Ångström
1	100	33 600	500	5—10
2	50	16 000	250	5—10
3	15	5 300	75	5—10

Der Schwefelgehalt aller 3 Präparate betrug 18%.

III. Gruppe: Fadenförmige, schwach heteropolare Substanzen.

Die *Cellulose-Glykolsäure-Äther* haben infolge ihrer Carboxylgruppen schwach heteropolare Eigenschaften und weisen eine geringe negative elektrische Ladung auf.

Tabelle 6.

Substanz Nr.	Polym.-Grad	Mol.-Gew.	Länge in Ångström	Breite in Ångström
1	200	48 000	1000	5—10
2	50	12 000	250	5—10

In den Versuchen, die in ihrer Anordnung mit den vorhergehenden völlig übereinstimmten, änderten die Celluloseglykolsäureäther mittleren und niederen Polymerisationsgrades nicht das normale Blutbild. Die Leukocytenwerte bewegten sich innerhalb der biologischen Schwankungen.

IV. Gruppe: Stark verzweigte homöopolare Substanzen wie *Glykogen*, *Dextran* und *Methylamylopektin* verursachten keine deutliche Veränderung des weißen Blutbildes.

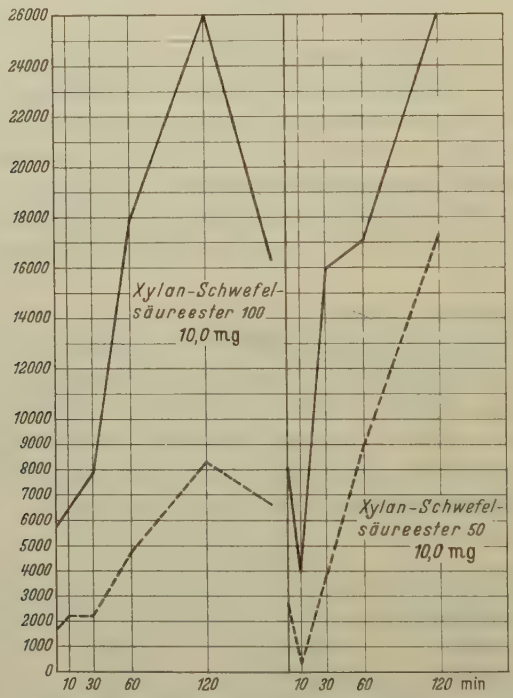


Abb. 4. Starke Leukocytose verbunden mit Lymphocytose nach Injektion von 10,0 mg/kg Xylanschwefelsäureester. ——— Gesamtzahl der Leukocyten. — — — Granulocyten.

Infolge der großen Variationsmöglichkeit am Polysaccharidmolekül war es möglich, nähere Zusammenhänge zwischen Konstitution und Wirkung nachzuweisen. Alle homöopolaren fadenförmigen Substanzen riefen eine Leukopenie mit nachfolgender geringer Leukocytose hervor. Nach Staub[3] beruht diese Leukopenie auf einer Zurückhaltung der Leukocyten in den Lungencapillaren. Wir konnten diesen Befund für unsere Stoffe in Versuchen am Herz-Lungen-Präparat bestätigen. Eine Abhängigkeit der Leukopenie vom Polymerisationsgrad war nicht zu beobachten.

Die schwach dissoziierenden Celluloseglykolsäureäther stehen in ihrer Wirkung auf das weiße Blutbild zwischen den homöopolaren ungeladenen Methylcellulosen und den stark heteropolaren negativ geladenen Cellulose- und Xylanschwefelsäureestern. Sie riefen weder eine Leukopenie noch eine Leukocytose hervor. Dagegen bewirkte der niedermolekulare Celluloseschwefelsäureester und die Xylanschwefelsäureester eine ausgesprochene Leukocytose mit Überwiegen der Lymphocyten.

Die verzweigten homöopolaren Substanzen Glykogen, Dextran und Methylamylopektin veränderten das Blutbild nicht.

Daraus folgt, daß die Wirkung auf das weiße Blutbild einerseits von der Molekülgestalt (verzweigt — unverzweigt), andererseits von der Art der Substitution bzw. der Ladung abhängig ist.

II. Die Beeinflussung der Blutkörperchensenkung.

Thorsén[4], der Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Substanzen wie Dextran, Gelatine und Fibrinogen in vivo auf die Blutkörperchensenkung gemacht hatte, fand, daß sich die Senkungsgeschwindigkeit der Erythrocyten mit zunehmendem Molekulargewicht und steigender Konzentration erhöht. Dabei stellte Thorsén fest, daß erst ein 10fach größeres Dextranmolekül (Mol. Gewicht 300000) die gleiche Blutkörperchensenkung verursacht wie Gelatine (Mol. Gewicht 30000) und daß niederpolymeres Dextran die Agglutination der Erythrocyten verhindert. Außer der Reihe der Dextrane, bei denen die Abhängigkeit vom Molekulargewicht klargestellt ist, verwendete Thorsén Substanzen, die in ihrer Struktur ungeklärt sind und deren chemische Eigenschaft und Konstitution stark voneinander abweichen.

Demgegenüber führten wir unsere Untersuchungen mit genau definierten Substanzen durch, um die Wirkung von Molekülgröße, Molekülform und Ladung auf die Senkung kennenzulernen.

Methodik.

Als Versuchstiere verwendeten wir Kaninchen im Gewicht von 2,5—3,5 kg. Das Blut für die Senkungen wurde aus der Ohrvene entnommen und in einem geeichten Paraffinschälchen gesammelt, mit 3,8%iger Natriumcitratlösung nach der klinisch üblichen Methode gemischt und in je 2 Mikropipetten nach Kowarski[5] aufgezogen. Die Entnahme erfolgte in der 10., 30., 60., 120. und 360. min nach der Injektion. Die Senkungswerte wurden nach 1, 2, 6 und 24 Std abgelesen. Mit dieser Versuchsanordnung sollte Beginn, Ausmaß und Dauer der Senkung festgestellt werden. Von je 3 Versuchstieren wurde der Senkungswert der 6. Std graphisch dargestellt. Auf der Abszisse wurden die Blutentnahmezeiten verzeichnet, die Ordinate gibt die Senkung der 6. Std in Millimetern an. Alle ermittelten Werte wurden auf einen gemeinsamen Ausgangspunkt bezogen.

Ergebnisse.

I. Gruppe: Fadenförmige homöopolare Substanzen.

A. *Methylcellulosen.* Diese Stoffe untersuchten wir im Bereich der Polymerisationsgrade 500—12.

Tabelle 7.

Substanz Nr.	Polym.-Grad	Mol.-Gew.	Länge in Ångström	Breite in Ångström
1	500	85000	2500	5—10
2	324	59300	1700	5—10
3	165	30000	800	5—10
4	50	8500	250	5—10
5	12	2200	60	5—10

10 min nach der Injektion von 20 mg/kg Methylcellulose 500 nahm die Senkung stark zu. Selbst nach 6 Std war sie noch stark beschleunigt. Mit abnehmendem Polymerisationsgrad nahm die Wirkung auf die Blutkörperchensenkung ab und ging in eine Hemmung der normalen Senkung über. Der Umschlag der Wirkung lag zwischen den Präparaten 2 und 3.

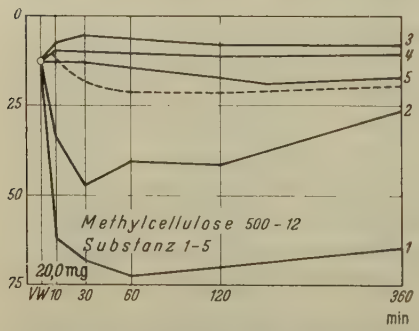


Abb. 5.
Blutkörperchensenkung nach Injektion von 20,0 mg/kg Methylcellulose. — — — Leerwert.

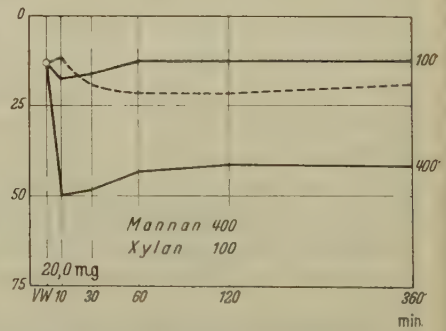


Abb. 6.
Blutkörperchensenkung nach Injektion von 20,0 mg/kg Mannan u. Xylan. — — — Leerwert.

B. *Mannan und Xylan* (vgl. Tab. 3). Mannan verhielt sich wie die Methylcellulose ähnlicher Kettenlänge und beschleunigte die Senkung. Xylan, das einen weit niederen Polymerisationsgrad von 100 besaß, verhielt sich wie die Methylcellulose von analogem Polymerisationsgrad, es hemmte die normale Senkung.

II. Gruppe: Fadenförmige, stark heteropolare Substanzen.

A. *Celluloseschwefelsäureester.* In den vorher beschriebenen Versuchen erwies sich der Celluloseschwefelsäureester mit dem Polym.-Grad 500 toxisch. Er konnte deshalb nur in Mengen von 2,5 mg/kg gespritzt werden. Selbst in dieser geringen Dosierung wurde die normale Senkung

gehemmt. Eine vergleichende Untersuchung mit 2,5 mg/kg Methylcellulose 500 ergab eine Steigerung der normalen Senkungswerte. Der Celluloseschwefelsäureester 13 hob ebenfalls die normale Senkung auf. Er entsprach damit in seiner Wirkung der Methylcellulose gleicher Kettenlänge.

B. *Xylanschwefelsäureester.* Infolge ihrer geringeren Toxizität eigneten sich diese Substanzen besser für vergleichende Untersuchungen.

Tabelle 8.

Substanz Nr.	Polym.-Grad	Mol.-Gew.	Länge in Ångström	Breite in Ångström	Schwefel in Prozent
1	100	30000	500	5—10	18
2	100	22300	500	5—10	9
3	100	17000	500	5—10	4
4	100	14000	500	5—10	1
5	50	15000	250	5—10	18

Die Injektion von 20 mg/kg Xylanschwefelsäureester hemmte die normale Blutkörperchensenkung in einem solchen Ausmaß, daß auch nach 24 Std kaum eine Senkung der Erythrocyten zu beobachten war. Die elektrische Ladung der Xylanschwefelsäureester hängt vom Schwefelgehalt ab, der bis zum 18-fachen variiert wurde, ohne daß sich der Einfluß auf die Senkungen wesentlich änderte.

III. Gruppe: Fadenförmige, schwach heteropolare Substanzen.

Celluloseglykolsäureäther. Im Gegensatz zu den Methylcellulosen ähnlichen Polymerisationsgrades verstärkten die Celluloseglykolsäureäther niederer und mittlerer Kettenlänge (Tab. 6) die Blutkörperchensenkung. Der Celluloseglykolsäureäther hohen Polymerisationsgrades rief in der 30. min eine vorübergehende Senkung hervor, die sich im weiteren Verlauf den Celluloseglykolsäureäthern niederen und mittleren Polymerisationsgrades wieder anglich.

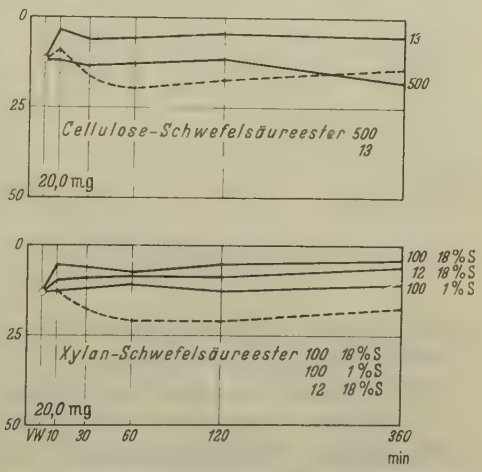


Abb. 7. Hemmung der Blutkörperchensenkung nach Injektion von 20,0 mg/kg Cellulose- und Xylanschwefelsäureester. — — — Leerwert.

IV. Gruppe: Die bisher untersuchten Substanzen besaßen unverzweigte Moleküle. Da Molekülverzweigungen die biologische Wirkung verändern können[1], haben wir die Blutsenkung nach Gaben von *Glykogen*, *Dextran* und *Methylamylopektin* untersucht. Die Dosierung betrug 20 mg/kg wie bei den vorhergehenden Versuchen.

Tabelle 9.

Substanz	Polym.-Grad	Mol.-Gew.	Durchmesser in Ångström	Länge in Ångström
Glykogen	8000	1296000	30	30
Glykogen	200	32400	15	15
Dextran	1000	162000	unbekannt	
Dextran	100	16200	unbekannt	
Methylamylopektin	200	39000	10	100—200

Methylamylopektin 200, Dextran 100 und Glykogen 8000 hemmten die Senkung, während das niedere Glykogen 200 ohne Wirkung war. Dagegen beschleunigte das hochpolymere Dextran 1000 in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Thorsén[4] die Senkung.

Nach diesen Ergebnissen wird die Wirkung nicht so sehr durch das Molekulargewicht als durch die Länge der Moleküle bestimmt. Nach seiner Länge würde das Glykogen 8000 dem Dextran 100, dem Methyl-

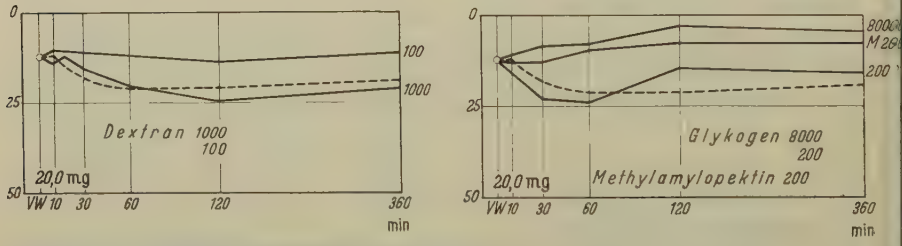


Abb. 8 und 9. Blutkörperchensenkung nach Injektion von 20,0 mg/kg Dextran, Glykogen und Methylamylopektin. — — — Leerwert.

amylopektin 200 und der Methylcellulose 12 entsprechen, während das Dextran 1000 in seinen Dimensionen einem Glykogen 80000 und einer Methylcellulose zwischen 324 und 165 gleichkommt.

Aus den vorliegenden Untersuchungen ergaben sich folgende Gesichtspunkte: Einen bestimmenden Einfluß auf die Blutsenkung hatte nicht so sehr das Molekulargewicht als die Länge der Moleküle; d. h. gleiche Länge, gleiche Wirkung unabhängig davon, ob die Moleküle verzweigt oder unverzweigt sind. Ein weiterer Faktor war die Ladung. Die stark heteropolaren Celluloseschwefelsäureester und Xylanschwefelsäureester hemmten, unabhängig vom Polymerisationsgrad und Substitutionsgrad, die Senkung. Die schwach geladenen Celluloseglykolsäureäther ver-

hielten sich wie bei den Blutbildern uncharakteristisch. Ob die beobachteten Effekte direkte physikalisch-chemische Wirkungen auf die Suspensionsstabilität des Blutes sind oder indirekte biologische durch Verschiebungen der Plasmakolloide, sollen künftige Untersuchungen zeigen.

III. Die Wirkung auf die Körpertemperatur.

Die gleichen Substanzgruppen wurden in ihrer Wirkung auf die Körpertemperatur untersucht.

Methodik.

Die Untersuchungen wurden ausschließlich an Kaninchen mit möglichst gleichem Körpergewicht durchgeführt. Die Temperaturmessungen und Injektionen fanden zur selben Zeit statt, um tageszeitlich bedingte Temperaturschwankungen zu vermeiden. 8—10 Std vor Versuchsbeginn wurde den Tieren kein Futter mehr gereicht.

Die Substanzen waren 1%ig in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Die Injektionen erfolgten in die Ohrvene. Im Einzelversuch verwendeten wir verschiedene Tiere, im Dauerversuch wurden die Injektionen in 24stündigem Abstand am selben Tier durchgeführt. Wir überprüften alle Tiere im Leerversuch (nur Temperaturmessungen) während mehrerer Tage, um festzustellen, welche Temperaturschwankungen das Lösungsmittel eventuell hervorruft. Injektionen von 0,9%iger Kochsalzlösung in Mengen bis 5 cm^3 erzeugten keine Temperatursteigerungen außerhalb der üblichen Schwankungen.

Im Verlauf der Untersuchung erwies sich folgende Versuchsanordnung als günstig:

1. Die Injektionsmenge wurde im Einzelversuch und Dauerversuch mit 10,0 mg, 0,5 mg und 0,05 mg pro kg Tier gewählt. Das Injektionsvolumen betrug 2 cm^3.

2. Nach Abnahme des Temperaturvorwertes erfolgte die Injektion und anschließend die Temperaturmessungen im Abstand von 10 min, 30 min und dann fortlaufend alle 30 min bis zur 240. min.

3. Bei der graphischen Darstellung der Versuchsergebnisse zeigt die Abszisse die Zeitabstände zwischen den einzelnen Messungen, die Ordinate die Temperatur in Grad.

Ergebnisse.

Die Untersuchungen ergaben folgendes Bild.

I. Gruppe: Fadenförmige homöopolare Substanzen.

A. *Methylcellulosen* verschiedenen Polymerisationsgrades:

Der Temperaturverlauf war nach der Injektion der Methylcellulosen abhängig von der Kettenlänge.

Tabelle 10.

Substanz Nr.	Polym.-Grad	10,0 mg/kg		0,5 mg/kg		0,05 mg/kg	
		min	Grad	min	Grad	min	Grad
1	500	90	1,6	90	1,2	120	1,5
2	360	90	1,5	120	0,9	120	0,5
3	50	120	0,6	120	0,9	150	0,5
4	12	120	0,8	150	0,7	150	0,7
5	3	120	0,8	150	0,5	—	—

Bei allen Einzelversuchen und im Dauerversuch über 21 Tage trat bei gleichbleibender Dosierung der Temperaturanstieg regelmäßig wieder auf. Eine Gewöhnung war nicht festzustellen. Allergische Reaktionen wurden am Kaninchen nicht beobachtet. Zum Vergleich wurde ein Fieberversuch mit Pyrifer unternommen. 3 Tieren wurden während 3 Tagen je 50, 100 und 200 Einheiten täglich intravenös verabfolgt.

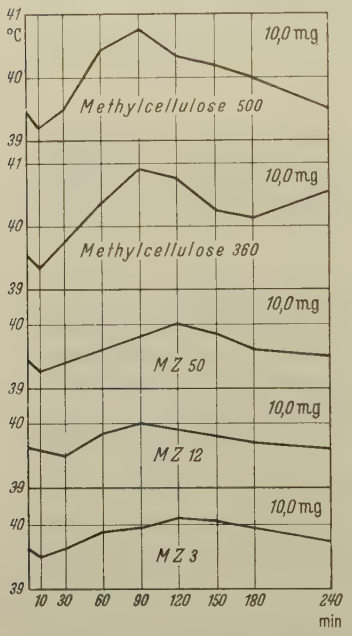


Abb. 10. Temperaturverlauf nach Injektion von 10,0 mg/kg Methylcellulose.

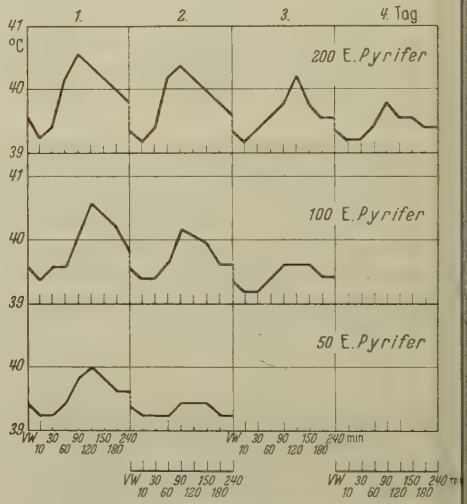


Abb. 11. Temperaturverlauf nach Injektion von 200, 100 und 50 E Pyrifer.

Auffällig war die rasche Gewöhnung der Tiere an das Mittel und die damit verbundene täglich mehr abfallende Temperaturkurve bei gleichbleibender Pyrifer-Dosierung.

Tabelle 11.

Substanz	1. Tag		2. Tag		3. Tag		4. Tag	
	min	Grad	min	Grad	min	Grad	min	Grad
Pyrifer:								
200 E pro Tag . .	90	1,4	90	1,2	120	1,0	90	0,6
100 E pro Tag . .	120	1,2	90	0,8	90	0,4	—	—
50 E pro Tag . .	120	0,8	90	0,2	—	—	—	—

B. *Mannan* und *Xylan*. Um entscheiden zu können, ob die temperatursteigernde Wirkung der Methylcellulosen eventuell eine Folge ihrer Oberflächenaktivität war, wurden zwei weitere Stoffe, die ebenfalls

homöopolar sind, aber keine Oberflächenaktivität besitzen, untersucht: Mannan und Xylan. Beide Substanzen riefen dieselben Temperaturen hervor wie die Methylcellulosen gleicher Kettenlänge. Die Oberflächenaktivität war also ohne Einfluß.

II. Gruppe: Fadenförmige, stark heteropolare Substanzen.

A. Da der *Celluloseschwefelsäureester* 500 sehr toxisch ist, konnte er nur in einer Dosierung von 2,5 mg pro kg Tier verwendet werden. Der Temperaturanstieg von durchschnittlich 1° entsprach dem Temperaturanstieg der Methylcellulose gleicher Kettenlänge bei gleicher Dosierung. Celluloseschwefelsäureester 13 ruft kein Fieber hervor.

B. Alle untersuchten *Xylanschwefelsäureester* gleich welchen Polymerisations- oder Substitutionsgrades hatten keine temperaturerhöhende Wirkung.

III. Gruppe: Fadenförmige, schwach heteropolare Substanzen.

Die *Celluloseglykolsäureäther* riefen im niederen und mittleren Polymerisationsgrad kein Fieber hervor. Celluloseglykolsäureäther 500 bewirkte eine leichte und verzögerte Temperaturerhöhung. Er unterschied sich hierdurch von der Methylcellulose gleichen Polymerisationsgrades.

IV. Gruppe: Stark verzweigte homöopolare Substanzen.

Glykogen, Dextran, Methylamylopektin: Alle drei Substanzen veränderten die Körpertemperatur nicht.

Aus den Versuchen ergab sich, daß unverzweigte homöopolare Makromoleküle die Temperatur erhöhen. Es besteht hier eine Parallele zur Wirkung auf das weiße Blutbild: Alle Substanzen, die eine Temperaturerhöhung hervorriefen, erzeugten eine Leukopenie.

Mit fallendem Polymerisationsgrad nahm die temperaturerhöhende Wirkung ab und entsprechend die Dauer der Leukopenie.

Eine eindeutige Beziehung zwischen dem Einfluß auf die Körpertemperatur und der Wirkung auf die Senkungen war nicht festzustellen.

IV. Die Wirkung auf Blutdruck und Atmung.

Nachdem eine deutliche Wirkung der erwähnten Substanzgruppen auf das weiße Blutbild, die Senkung und Körpertemperatur festgestellt war, lag es nahe, einen eventuellen Einfluß auf den Blutdruck zu untersuchen.

Methodik.

Verwendet wurden Kaninchen im Gewicht von 2—3 kg. Die Dosierung war den vorhergehenden Untersuchungen angepaßt, wurde aber teilweise bis auf das 20fache erhöht. Den arteriellen Blutdruck haben wir mit Hilfe eines Membranmanometers an der Carotis externa, den venösen Druck nach Einführung einer

Venenkanüle über die Vena jugularis in den rechten Vorhof gemessen. Die Atmung wurde mit Hilfe einer Mareyschen Kapsel nach Einlegen einer Kanüle in die eine Nasenöffnung dargestellt.

Ergebnisse.

Die Substanzen der ersten Gruppe riefen bei einer Dosierung von 10 mg/kg bis 100 mg/kg weder eine Erhöhung noch ein Absinken des arteriellen Blutdruckes hervor. Eine Beeinflussung der Atmung war nicht zu beobachten.

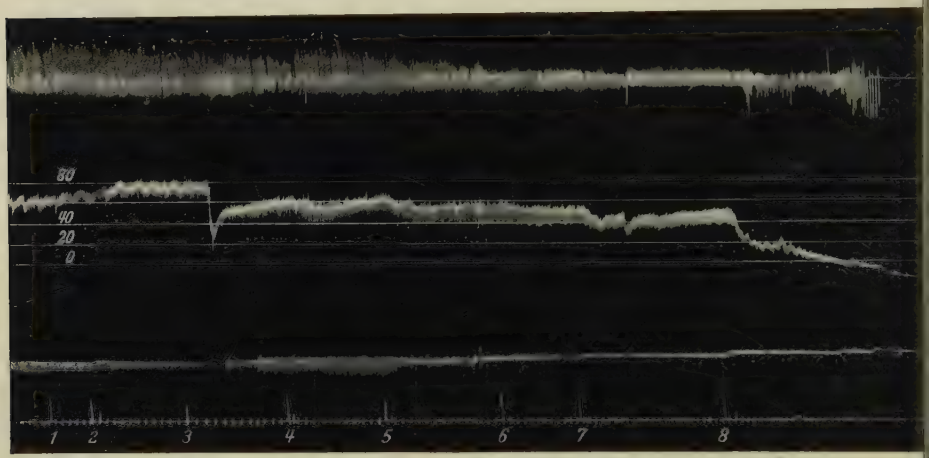


Abb. 12. Blutdruck und Atmung nach Injektion von Celluloseschwefelsäureester 500. Kaninchen, 2,7 kg. Paraldehyd-Narkose. Obere Kurve: Atmung; mittlere: arterieller Druck in mm Hg; untere: venöser Druck. Zeitmarkierung in 30 sec. *1* = 2 cm³ 0,9% NaCl. *2* = 1,0 mg/kg; *3* = 2,5 mg/kg; *4* = 5,0 mg/kg; *5* = 10,0 mg/kg; *6* = 20,0 mg/kg; *7* = 40,0 mg/kg; *8* = 80,0 mg/kg Celluloseschwefelsäureester 500.

Die zweite Gruppe umfaßt die Xylanschwefelsäureester und die Celluloseschwefelsäureester. Die Dosierung erfolgte in einer Breite von 2,5—50,0 mg/kg. Alle Xylanschwefelsäureester waren ohne Einfluß auf den Blutdruck und die Atmung, ebenso der Celluloseschwefelsäureester 13.

Eine Ausnahme machte der Celluloseschwefelsäureester 500. Bei Kaninchen sank nach intravenöser Gabe von 2,5 mg/kg der Blutdruck plötzlich stark ab, der venöse Druck stieg an und die Atmung wurde flacher. Nach 10 min erfolgte eine Normalisierung. Nach weiteren Gaben von 5 mg und 10 mg/kg blieb der Blutdruck und die Atmung unbeeinflußt. Erst eine Injektion von 80 mg/kg führte unter abermaligem Absinken des arteriellen und Ansteigen des venösen Druckes verbunden mit Atemstillstand zum Tod des Tieres.

Gab man den Tieren Xylanschwefelsäureester vor der Injektion des Celluloseschwefelsäureesters 500, so zeigte sich bei gleicher Versuchsanordnung, daß die Verträglichkeit des Celluloseschwefelsäureesters 500 wesentlich erhöht war.

Die Celluloseglykolsäureäther als dritte Gruppe waren ohne Einfluß auf Blutdruck und Atmung.

Die vierte Gruppe umfaßt neben Methylamylopektin und Glykogen die Blutersatzmittel Dextran und Periston. Bei der von uns verwendeten Dosierung von 10—100 mg/kg konnte bei langsamer Injektion keine Einwirkung auf Blutdruck und Atmung festgestellt werden.

Alle im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Substanzen, außer dem Celluloseschwefelsäureester 500, hatten in den angegebenen Dosierungen keinen Einfluß auf Blutdruck und Atmung. Der Wirkungsmechanismus des Celluloseschwefelsäureesters 500 ist noch ungeklärt, wahrscheinlich findet eine Ausfällung von Fibrinogen statt.

V. Die Resorption makromolekularer Polysaccharidderivate.

Es sollte festgestellt werden, welche Rolle Polarität, Oberflächenaktivität, Polymerisations- und Substitutionsgrad bei der Resorption spielen.

Methodik.

Zu den Versuchen wurden Ratten im Gewicht von 100 g verwendet. In Äthernarkose injizierten wir den Tieren 0,5 cm³ der 1%igen Lösung subcutan in eine Hinterpfote. Die andere Pfote blieb zur Kontrolle unbehandelt. Es wurden je 6 Tiere für jede Substanz verwendet. Nach 1, 4, 8, 24 und 48 Std. kontrollierten

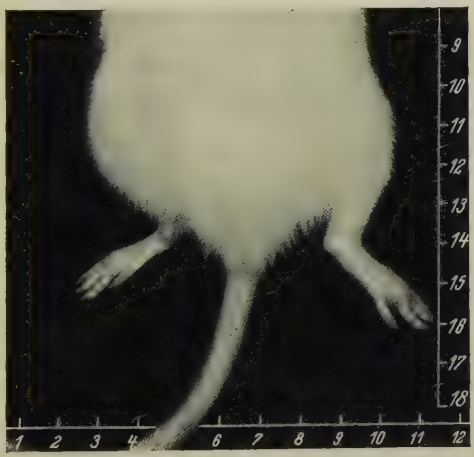


Abb. 13. Rechts Rattenpfote 1 Std nach subcutaner Injektion von 0,5 cm³ einer 1%igen Methylcellulose-Lösung. Links unbehandelte Rattenpfote.

wir die Pfoten. Dabei wurde der Grad der Schwellung mit + ÷ bezeichnet, wenn keine sichtbaren Zeichen einer Resorption vorhanden waren (2mal + ÷ bei 6 Tieren = 6 cm in der Zeichnung). Die Tiere galten als + bei leichter Faltenbildung und als schwach ÷ bei starker Faltenbildung und deutlicher Abschwellung der Pfote.

Ergebnisse.

I. Gruppe: Fadenförmige homöopolare Substanzen.

A. Alle *Methylcellulosen* riefen an der Rattenpfote nach subcutaner Injektion keine Reizerscheinungen hervor. Die Resorbierbarkeit nahm mit abnehmendem Polymerisationsgrad zu. Nach 48 Std war kein Unterschied mehr zwischen behandelter und unbehandelter Pfote festzustellen.

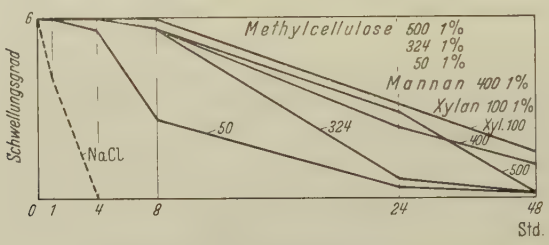


Abb. 14. Resorptionsgeschwindigkeit von Methylcellulose, Mannan und Xylan. — — — 0,5 cm³ 0,9% Kochsalzlösung.

B. *Mannan* und *Xylan*. Mannan als homöopolare Substanz ohne Oberflächenaktivität verhielt sich wie die Methylcellulose gleichen Polymerisationsgrades. Das schlechter lösliche Xylan 100, ebenfalls ohne Oberflächenaktivität, wurde sehr langsam, aber reizlos resorbiert.

II. Gruppe: Fadenförmige, stark heteropolare Substanzen.

A. Der *Celluloseschwefelsäureester* 500 rief nach der Injektion bei anfänglich guter Resorption von der 8. Std an Reizerscheinungen hervor.

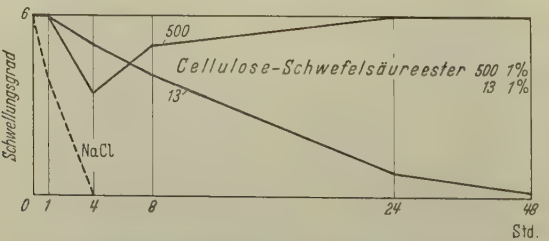


Abb. 15. Resorptionsgeschwindigkeit von Celluloseschwefelsäureester 500 und 13. — — — 0,5 cm³ 0,9% Kochsalzlösung.

Die Ratten traten auf die Pfoten nicht mehr auf, diese waren blaurot angeschwollen und entzündet. Nach 48 Std bildeten sich Nekrosen, die nach einigen Tagen narbig abheilten. Der Celluloseschwefelsäureester 13 zeigte nach der Injektion keine Reizerscheinungen. Nach 48 Std waren die Pfoten wieder normal. Bei einzelnen Tieren wurden leichte Blutungen in die Pfote festgestellt, Nekrosen traten nicht auf.

B. *Xylanschwefelsäureester*. Dieser wurde gut resorbiert, und zwar um so besser, je kleiner der Polymerisationsgrad war.

Auffallend war die beschleunigte Resorption des Xylanschwefelsäureesters 100 mit 1% Schwefel im Vergleich zum Xylan 100. Dieser Effekt ist auf die wesentlich verbesserte Löslichkeit infolge der Sulfurierung zurückzuführen. Vereinzelt waren bei den hochsubstituierten Xylan-

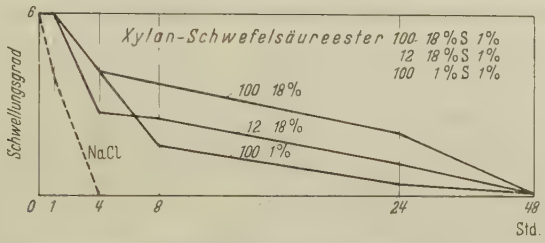


Abb. 16. Resorptionsgeschwindigkeit von Xylanschwefelsäureester 100: 18% Schwefel; 100: 1% Schwefel; 12: 18% Schwefel. — — — 0,5 cm³ 0,9% Kochsalzlösung.

schwefelsäureestern leichte Blutungen in die Pfote zu bemerken, die nach 48 Std restlos verschwanden.

III. Gruppe: Fadenförmige, schwach heteropolare Substanzen.

Alle *Celluloseglykolsäureäther* wurden annähernd gleich resorbiert, unabhängig vom Polymerisationsgrad. Sie entsprechen hier etwa einer Methylcellulose mit der Kettenlänge 50. Reizerscheinungen waren nicht zu beobachten. Nach 48 Std hatten alle Pfoten wieder ihre normale Stärke.

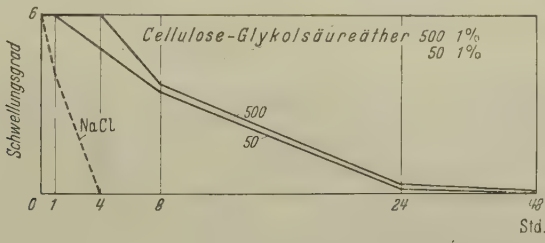


Abb. 17. Resorptionsgeschwindigkeit von Celluloseglykolsäureäther 500 und 50. — — — 0,5 cm³ 0,9% Kochsalzlösung.

IV. Gruppe: Stark verzweigte homöopolare Substanzen: *Dextran, Methylamylopektin.*

Beide Präparate sind gut resorbierbar. Bei dem hochpolymeren Dextran 1000 ist die Resorption infolge seiner Kettenlänge verzögert.

Wegen seiner Bedeutung als Blutersatzmittel wurde noch Periston zum Vergleich herangezogen. Dabei wurden Dextran und Periston in

einer 5%igen Lösung untersucht, wie sie bei Infusionen üblich ist. Bei Dextran war die Resorption anfangs verzögert und dann beschleunigt, bei Periston anfangs beschleunigt und dann verzögert. Dieser Befund stimmt mit den klinischen Beobachtungen überein.

Eine Überprüfung der lokalen Reaktionen am Kaninchenohr führte bei allen Substanzen zu einer Rötung an der Injektionsstelle, die nach 2—3 Tagen verschwand. Die Injektion von Xylanschwefelsäureester und Celluloseschwefelsäureester rief diffuse Blutungen hervor, die nach einigen Tagen resorbiert waren.

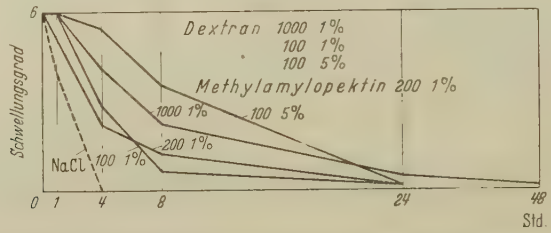


Abb. 18. Resorptionsgeschwindigkeit von Dextran 1000 und 100. Methylamylopektin 200. ——— 0,5 cm³ 0,9% Kochsalzlösung.

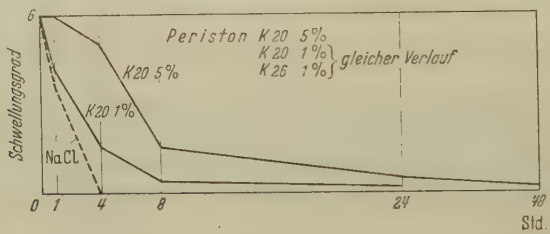


Abb. 19. Resorptionsgeschwindigkeit von Periston K 20, Mol.-Gew. 15000; K 26, Mol.-Gew. 26000. ——— 0,5 cm³ 0,9% Kochsalzlösung.

Methylcellulose 500, die in festem Zustand bei Ratten subcutan implantiert worden war, wurde innerhalb 3—4 Wochen resorbiert. Wurde dieselbe Methylcellulose in die Bauchhöhle eingebracht, so bildete sich ein Tumor von Granulationsgewebe, in dem die Methylcellulose unresorbiert gefunden wurde. Diese Beobachtung bezieht sich auf eine Versuchsdauer von 4 Monaten.

Überblickt man die Ergebnisse dieser Untersuchung, so findet man für fast alle Substanzen eine Abhängigkeit der Resorption vom Polymerisationsgrad. Die verzögerte Resorption des Xylan 100 beruht auf seiner schlechten Löslichkeit, die Oberflächenaktivität war ohne Einfluß. Bei den Xylanschwefelsäureestern bestand eine Abhängigkeit vom Substitutionsgrad, wobei der am niedrigsten substituierte Xylanschwefelsäureester am schnellsten resorbiert wurde.

Eine Deutung dieser Beobachtung war infolge der Vielzahl der Effekte wie Hyaluronidasehemmung, Diffusion, Abbau, Entquellung und Ablagerung im Gewebe noch nicht möglich.

Der Verzweigungsgrad der Moleküle hatte keinen Einfluß. Eine Erhöhung der Konzentration verzögerte die Resorption.

VI. Untersuchung der Toxizität.

Alle Substanzen waren 1 %ig in physiologischer Kochsalzlösung gelöst.

Für die Substanzen der I. Gruppe, Methylcellulosen, Mannan und Xylan, konnte in Dosen bis zu 100 mg/kg keine akute Giftigkeit festgestellt werden. Dieser Befund steht im Einklang mit amerikanischen Untersuchungen[6], bei denen Methylcellulose intravenös und peroral in großen Mengen über längere Zeit verabfolgt wurde. Allerdings wurden als Spätfolge Veränderungen in Leber, Milz und den Gefäßwänden beobachtet.

Die II. Substanzgruppe umfaßte die Celluloseschwefelsäureester und Xylanschwefelsäureester. Diese Polysaccharidschwefelsäureester wurden in größeren Versuchsreihen eingehend auf ihre Toxizität in einer Arbeit von Husemann, von Kaulla und Kapesser[1] untersucht. Sie wurden weit über die therapeutische Dosis, die bei ungefähr 5 mg/kg liegt, vertragen. Bei einer Dosierung von etwa 50 mg/kg bestand die Gefahr der inneren Verblutung. Eine akute toxische Wirkung war aber auch bei 100 mg/kg nicht festzustellen.

Eine Ausnahme machte wieder der Celluloseschwefelsäureester 500, der schon bei einer Injektionsmenge von 3 mg/kg[1] akut zum Tode führte. Überstand das Tier eine 1. Injektion von 2,5 mg/kg, dann steigerte sich die Verträglichkeit. Die Dosis letalis lag dann ungefähr bei 80 mg/kg. Wurde vorher ein Xylanschwefelsäureester injiziert, so stieg die Verträglichkeit bei gleicher Versuchsanordnung.

Bei der III. Substanzgruppe, den Celluloseglykolsäureäthern, war wie bei den Methylcellulosen eine akute Giftigkeit nicht festzustellen.

Dasselbe gilt für die IV. Substanzgruppe, wo z. B. 10 g/kg Dextran intravenös reaktionslos vertragen wurden.

Zusammenfassend ist zu sagen: Für alle untersuchten Substanzen, außer dem Celluloseschwefelsäureester 500, besteht keine akute Giftigkeit. Über das Auftreten von Spätschäden liegen außer für Methylcellulosen noch keine Beobachtungen von genügender Dauer vor.

Zusammenfassung.

Wasserlösliche Polysaccharide und ihre homöopolaren und heteropolaren Derivate (Tab. 1 und Abb. 1) wurden hinsichtlich ihrer Wirkung auf das weiße Blutbild, Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit, Körpertemperatur sowie Atmung geprüft und ihre Resorptionsgeschwindigkeit

und Toxizität untersucht. Es gelang, Zusammenhänge zwischen Molekülgröße, Molekülgestalt, chemischer Natur der Substanzen und ihren pharmakologischen Eigenschaften aufzufinden.

1. Alle homöopolaren fadenförmigen Substanzen riefen eine Leukopenie mit nachfolgender geringer Leukocytose hervor. Eine Abhängigkeit von der Kettenlänge war nicht zu beobachten.

Die stark heteropolaren Xylan- und Celluloseschwefelsäureester bewirkten eine ausgesprochene Leukocytose mit Überwiegen der Lymphocyten.

Die schwach dissoziierenden Celluloseglykolsäureäther verhielten sich indifferent.

Verzweigte homöopolare Makromoleküle veränderten das Blutbild nicht.

Daraus folgt, daß die Wirkung auf das weiße Blutbild einerseits von der Molekülgestalt, andererseits von der Ladung abhängig ist.

2. Einen bestimmenden Einfluß auf die Blutkörperchensenkung hatte die Polarität und die Länge der Moleküle.

Der Substitutionsgrad war ohne Bedeutung.

Es zeigte sich, daß die homöopolaren Substanzen von 1500 Ångström aufwärts die Senkung beschleunigten, während alle stark heteropolaren die Senkung hemmten. Die schwach geladenen Celluloseglykolsäureäther verhielten sich uncharakteristisch.

3. Unverzweigte homöopolare Makromoleküle erhöhten die Körpertemperatur, eine Gewöhnung trat nicht ein. Es besteht hier eine Parallele zur Wirkung auf das weiße Blutbild.

Stark verzweigte homöopolare und alle untersuchten heteropolaren Substanzen außer dem Celluloseschwefelsäureester 500 beeinflußten die Temperatur nicht.

4. Alle Substanzen, ob homöopolar oder heteropolar, waren ohne Einfluß auf Blutdruck und Atmung, ausgenommen der Celluloseschwefelsäureester 500.

5. Die Resorption aller Polysaccharide war von ihrem Polymerisations- und Substitutionsgrad abhängig. Der Verzweigungsgrad der Moleküle war ohne Bedeutung.

6. Bei allen untersuchten Substanzen konnte keine akute Giftigkeit festgestellt werden. Eine Ausnahme machte der Celluloseschwefelsäureester 500.

Der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und der Dr. *Wander* A. G. Bern und Säckingen möchten wir auch an dieser Stelle unseren besten Dank für die Unterstützung, die uns die Durchführung der Arbeit ermöglicht hat, aussprechen.

Wir danken ferner Frl. Dipl. chem. U. Consbruch für ihre Hilfe bei der Herstellung einer Reihe von Substanzen.

Literatur.

[1] Husemann, E., K. N. v. Kaulla u. R. Kapesser: Z. Naturforschg **1**, 584 (1946). — [2] Staub, H., u. G. Gollandas: Schweiz. med. Wschr. **35**, 823 (1935); **59**, 969 (1938). — Staub, H., G. Gollandas u. K. Mezey: Klin. Wschr. **43**, 1501 (1938). — Staub, H., u. G. Gollandas: Pflügers Arch. **236**, 355 (1935). — Schilling, V.: Dtsch. med. Wschr. **13**, 516 (1925). — Oeller, H.: Münch. med. Wschr. **7**, 218 (1924). — Faludi, F.: Fol. haemat. (Lpz.) **59**, 357 (1938). — Nissen, R.: Klin. Wschr. **40**, 1986 (1922). — Z. exper. Med. **28**, 193 (1922). Goldscheider, F., u. Jacob: Z. klin. Med. **23**, 373 (1894). — Vejlens, G.: Inaug.-Diss. Upsala 1938; zit. nach Staub: Schweiz. med. Wschr. **73**, 904 (1943). — [3] Staub, H., u. K. Bucher: Schweiz. med. Wschr. **29**, 904 (1943). — Bucher, K., u. H. Staub: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **194**, 506 (1940). — [4] Thorsén, G.: Acta chir. scand. (Stockh.) **1950**, 154. — [5] Kowarski: Klin. Wschr. **40**, 1863 (1931). — [6] Hodge, Mayerd, Wilt, Blanchet and Hayatt: J. of Pharmacol. **99**, 112 (1950).

Dr. W. Hertlein, Freiburg i. Br., Katharinenstraße 29, Pharmakolog. Institut.

Prof. Dr. E. Husemann, Freiburg/Br., Albertstr. 21, Chemisches Laboratorium der Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 130—143 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg und dem pharmakologischen Laboratorium der Firma H. Mack Nachf. (Illertissen).

Differenzierung von zwei hämolysierenden Faktoren im Bienengift*.

Von

Wilhelm Neumann, Ernst Habermann und Heinke Hansen.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juni 1952.)

Die hämolytische Wirkung von Bienengift pflegt man auf ein lecithinspaltendes Ferment zurückzuführen. Diese Lecithase kommt auch in anderen tierischen Giften, insbesondere in solchen von Schlangen vor. Sie spaltet aus dem Lecithinmolekül die ungesättigte Fettsäure heraus und läßt so eine von Delezenne als Lysocithin (Lysolecithin) benannte, stark hämolysierende Substanz entstehen. Bei Untersuchungen über Wirkungen und Wirkstoffe von Bienengift, über die an anderer Stelle noch zu berichten sein wird, beobachteten wir (Neumann und Hansen) wiederholt, daß gewisse Präparate sicher diese Lecithase A enthielten, d. h. Lecithin in Lysocithin überführen konnten, aber an gewaschenen Erythrocyten im Gegensatz zu anderen Präparaten und insbesondere zu frischem Bienengift auch in hoher Konzentration (1:1000) wirkungslos blieben. Im nativen Bienengift wäre also entweder ein Aktivator anzunehmen, der die Lecithase erst gegenüber gewaschenen Erythrocyten wirksam werden läßt, oder aber *ein besonderer, direkt hämolysierender Faktor*. Neben ihm wäre die altbekannte *Lecithase* als *indirekt hämolysierender Faktor* des Giftes zu charakterisieren.

Ein zweites, direkt wirkendes hämolytisches Prinzip haben schon Grosse und Tauböck neben der Lecithase A im Bienengift vermutet, weil es im Gegensatz zu Kobragift auch serum*freie* Erythrocyten hämolysiert. Dieser Schluß ist jedoch nicht eindeutig, da der Unterschied beider Giftarten auch durch einen besonderen Aktivator im Bienengift bedingt sein könnte. Einem weiteren Argument dieser Autoren — die direkte hämolytische Wirksamkeit soll bei Hitzeinaktivierung der Lecithase angeblich erhalten bleiben - widersprechen unsere eigenen Beobachtungen über das Verhalten beider Faktoren bei Erhitzen von Giftlösungen; vielleicht war die von Grosse und Tauböck nicht beschriebene Methode zur Bestimmung der Lecithaseaktivität nicht hinreichend empfindlich, so daß neben der restlichen direkten Wirkung die ebenfalls noch vorhandene indirekte (Lecithase-) Aktivität übersehen wurde.

* Herrn Professor Dr. W. Heubner in Verehrung zum 75. Geburtstag.

Wir berichten hier über einen Teil unserer Arbeiten zur Charakterisierung der beiden hämolysierenden Prinzipien im Bienengift. Herrn Dr. W. Schoetensack sind wir für seine Mitwirkung bei der Ausarbeitung von Methoden und bei der Durchführung der Versuche zahlreicher studentischer Mitarbeiter zu großem Dank verpflichtet.

I. Methoden.

a) Allgemeines.

Die von uns bei der *Bestimmung des Hämolysegrades* eingehaltene Arbeitsweise (vgl. S. 132) ist im wesentlichen bekannt.

Die Ermittlung der Lecithaseaktivität ist auf 3 Wegen möglich: Die Isolierung und Titration der aus einer bekannten Menge Lecithin abgespaltenen Fettsäure (Fairbairn) erfordert relativ beträchtliche Mengen Lecithin und auch Lecithase. Die Registrierung der Änderung des Oberflächenpotentials eines Lecithinfilms unter der Einwirkung der Lecithase (Hughes) erfordert weniger Material. Man nimmt aber dabei eine geringere Spezifität in Kauf; Proteine z. B. beeinflussen das Oberflächenpotential ebenfalls. Eine dritte Möglichkeit bietet die *Bestimmung der hämolytischen Wirkung des* unter der Fermentwirkung aus Lecithin entstandenen *Lysocithins*. Diese Methode ist insofern spezifisch, als sie eindeutig auf Lysocithinwirkungen beruht. Voraussetzung ist allerdings wie bei den anderen Verfahren, daß keine weiteren Fermente vorhanden sind, die das Lysocithin seiner restlichen Fettsäure berauben (Lecithase B) oder die Phosphorsäure vom Glycerin lösen (Phospholipase C) oder auch das Cholin herausspalten würden (Phospholipase D; vgl. hierzu die zusammenfassende Darstellung von Zeller). Bei Bienengift sind, soweit darüber Angaben vorliegen und auch nach unseren eigenen Beobachtungen, diese Voraussetzungen erfüllt, während Wespengift auch eine Lecithase B enthält (vgl. Belfanti).

Ein Nachteil dieser Methode ist die Benutzung von Erythrocyten, also eines biologischen, schwer standardisierbaren Substrates als Indicator einer chemischen Wirkung. Eine technische Schwierigkeit liegt auch in der Herstellung einer reproduzierbaren, von Begleitstoffen möglichst freien Lecithinemulsion. Hier spielt schon die bekannte Zersetzlichkeit von Lecithin eine wichtige Rolle; gereinigte Cadmiumsalze von Lecithin sind selbst im Vakuum nicht haltbar (Contardi und Latzer).

Wie schon viele vor uns haben wir anfänglich als Lecithinpräparat Emulsionen von frischem Eidotter benutzt. Die Schwankungen der Lysocithineffekte waren aber hier besonders stark, da ja nicht nur der Lecithingehalt und die Zusammensetzung des Lecithins sehr unterschiedlich sind, sondern auch noch der Cholesteringehalt des Dotters sich störend bemerkbar macht.

Die Schwierigkeiten lassen sich überwinden durch Verwendung eines möglichst frisch gewonnenen Standard-Lecithins und eines Standardpräparates von Bienengift, das in trockenem Zustand viele Jahre haltbar ist. Im Prinzip wird eine bestimmte Menge Lecithin in 40%igem Methanol für eine ebenfalls bestimmte Zeit einerseits mit einer bekannten

Menge Standardgift, andererseits mit der zu untersuchenden Probe bei 37° oder 50° behandelt und anschließend die in beiden Ansätzen entstandene hämolytische Wirkung an einer Aufschwemmung gewaschener Erythrocyten verglichen. Einfacher ist es, den Standardgift-Ansatz durch bekannte Mengen eines Standard-Lysocithins zu ersetzen, doch tritt dabei eine Unsicherheit hinzu: die Wirkung der Bienengiftlecithase kann durch Lecithin gehemmt werden (vgl. S. 134). Wenn also der Lecithasegehalt einer Giftprobe zu gering ist, um in der verfügbaren Zeit eine nennenswerte Menge Lecithin in Lysocithin zu verwandeln, so kann eine zu schwache Fermentwirksamkeit vorgetäuscht werden. Bei orientierenden Versuchen kann die gebildete Lysocithinmenge auch aus einer Durchschnittskurve (vgl. Abb. 1) abgelesen werden, wobei aber wieder Täuschungen möglich sind, wenn zufällig eine besonders große Abweichung in der Resistenz der benutzten Erythrocyten vorliegt.

b) Bestimmung der direkten Hämolysewirkung.

Der erreichte Hämolysegrad wurde zum Teil, insbesondere bei umfangreichen Reihenversuchen, geschätzt (+ — + + = vollständige, — = keine Hämolyse), nach Möglichkeit aber durch Messung des Prozentsatzes an freigesetztem Hämoglobin bestimmt (Cyanhämiglobinmethode von Evelyn in der Anordnung von Havemann, Jung und v. Issekutz; Messung mit Kortüm-Spektralphotometer).

Aus *Citratblut*, manchmal auch aus defibriniertem Blut von Gesunden oder von Patienten oder auch von Tieren wurden die Erythrocyten abzentrifugiert, 3mal mit 0,85%iger Kochsalzlösung gewaschen und anschließend in m/15 Phosphatpuffer nach Soerensen (p_H 6,9) suspendiert. Teilweise wurde auch in ungepufferter Kochsalzlösung gearbeitet. Die Endkonzentration an Erythrocyten im Hämolyseansatz betrug meist 1% von der im Ausgangsblut. Die Zellzahl wurde nach Möglichkeit bestimmt und durch Zugabe berechneter Puffermengen eingestellt, möglichst auf 50 Millionen Zellen pro Kubikzentimeter. Blut mit Zeichen einer Spontanhämolyse wurde nicht benutzt. Bei Versuchsbeginn waren die Erythrocyten gewöhnlich 1—4 Std alt.

Die Giftlösungen in Phosphatpuffer wurden vorgewärmt zu gleichen Mengen einer meist 2%igen Erythrocytenaufschwemmung gegeben. Nach Durchmischen und Hämolyse (meist bei 37°) wurde der Hämolysegrad geschätzt und eventuell nach Zentrifugieren (3 min bei 3000 U/min) spektralphotometrisch bestimmt. Gefäße und Pipetten wurden zuvor bei 300° sterilisiert, die Lösungen aus frischem, doppelt destilliertem Wasser bereitet.

Als *Bienengift* dienten anfänglich schwach bräunliche Trockengifte, die manchmal nicht frei von z. T. wasserunlöslichen Beimengungen (Stacheln, Exkremente usw.) waren. Später verwendeten wir ein durch Fällung mit Pikrinsäure (vgl. Tetsch und Wolff) gereinigtes Gift, welches fast farblos, leicht und vollständig wasserlöslich und von konstanter Wirkung war[1].

Außerdem untersuchten wir Frischgift, welches auf dem Bienenstand des Instituts unmittelbar vor Versuchsbeginn entnommen wurde. Hierzu wurden die

[1] Für die Überlassung von Bienengift danken wir der Firma H. Mack Nachf. (Illertissen).

Bienen mit einer langen, stumpfen Pinzette um die Thorakoabdominalverbindung gefaßt und der daraufhin an der Stachelspitze erscheinende Gifttropfen mit einem Schälchen mit Kochsalz- oder Pufferlösung abgenommen.

Lysocithin wurde nach den Vorschriften von Levene und Mitarbeitern aus Eidotter und Bienengift hergestellt und über das Cadmiumsalz gereinigt. Das Gemisch der Lysoverbindungen wurde aus Pyridin-Essigester in gelblichen, leicht schmierigen Kristallen erhalten. Auf die Abtrennung von Lysokephalinen wurde verzichtet, da dies bisher offenbar noch niemand in befriedigendem Maße gelungen ist.

c) Bestimmung der Lecithase-Aktivität.

1. Bebrütungsansatz (Beispiel).

4 cm³ einer frisch bereiteten Bienengiftlösung (etwa 1:100000) werden in sterilem Kölbchen mit sterilen Pipetten mit 8 cm³ m/15 Phosphatpuffer und 8 cm³ einer Lösung 1:2000 von Lecithin in Methanol p. a. versetzt. Das *Lecithin* wurde nach Pangborn hergestellt und bei —10—15° im Dunkeln aufbewahrt. Weniger reines Methanol kann Hemmstoffe enthalten. Eine leichte Trübung stört nicht. Der Ansatz wird 3 Std bei 37° oder auch 50° im Thermostaten gehalten.

2. Hämolyseansatz (Beispiel).

Aus dem Bebrütungsansatz werden mit Puffer Verdünnungen im Verhältnis 1:5 bzw. 1:10 und 1:20 (entsprechend einer Lecithin-Lysocithin-Konzentration von 1:25000 bzw. 1:50000 und 1:100000) hergestellt und davon je 7 cm³ mit 7 cm³ einer 2%igen Erythrocytensuspension (vgl. oben unter „direkte Hämolyse") versetzt und 40 min im Wasserbad bei 37° gehalten. Anschließend wird 3 min bei 3000 U/min zentrifugiert und im Überstehenden der relative Hb-Gehalt im Vergleich zu einer Totalhämolyse der gleichen Erythrocytensuspension bestimmt (vgl. oben S. 132).

Es ist wesentlich, daß der Bebrütungsansatz vor Zugabe der Erythrocyten mit Phosphatpuffer stark verdünnt wird; denn dadurch wird einerseits das direktwirkende Hämolysin des Bienengiftes ausgeschaltet, andererseits das im Bebrütungsansatz vorhandene Methanol, welches in einer Konzentration von 8% die Lysocithinhämolyse noch partiell hemmen kann. Außerdem verursacht Methanol eine Verzögerung der Cyanhämiglobinbildung (Claus). Der wichtigste Grund für eine stufenweise Verdünnung ist die Notwendigkeit, in den Bereich einer 25 bis 75%igen Hämolyse zu gelangen, da in diesem Bereich eine stärkere oder schwächere Wirkung der Lecithase am besten zu erkennen ist. Die entsprechenden Verdünnungen werden im folgenden als „Lecithin-Lysocithin" bezeichnet, weil die wahre Lysocithinkonzentration nicht bekannt ist.

Unter Beachtung der angegebenen Regeln hängt die Streuung der Ergebnisse im wesentlichen von den unvermeidlichen Schwankungen der Resistenz der Erythrocyten ab. In jedem Fall müssen zwei Kontrollen mit bekannter Lecithaseaktivität durchgeführt werden und die unbekannte Aktivität zwischen diese beiden bekannten „eingegabelt" werden.

3. Wirkung von Methanol auf die Aktivität der Lecithase.

Läßt man auf Eigelbverdünnungen 1:16 (Lecithinkonzentration etwa 1:160) Bienengift 1:100000 oder 1:1000000 einwirken, so zeigt sich bei Zusatz von 10% Methanol stets nach 15 bis 120 min langer Bebrütung bei 37° eine geringere hämolytische Wirkung als in Parallelversuchen ohne Methanol.

Bei Verwendung von reinem Lecithin tritt aber der günstige lecithinlösende Einfluß von Methanol bis zu einer bestimmten Konzentration stärker hervor als die hemmende Wirkung auf das Ferment. In Ansätzen mit Lecithin 1:160, Bienengift 1:100000 und 5—20% Methanol war nach dreistündiger Bebrütung die hämolytische Wirkung nur schwach. Sie erreichte *bei 40% Methanol* ein *Maximum*, um dann bei 50—90% Methanol im Bebrütungsansatz immer stärker abzufallen (Schreen).

4. Einfluß der Lecithinkonzentration auf die Lecithaseaktivität.

Wenn Bienengift 1:100000 auf Eigelbverdünnungen von 1:4 bzw. 1:120 für 15 bis 120 min einwirkt, so weisen die Ansätze mit stärker verdünntem Eigelb stets eine stärkere hämolytische Wirksamkeit auf.

Auch in Lösungen von Reinlecithin 1:160 bis 1:5120 in 40% Methanol ließ Bienengift 1:100000 eine mit der Lecithinverdünnung ansteigende hämolytische Aktivität entstehen (Schreen, vgl. Tab. 1). Die Lecithaseaktivität verdünnter Bienengiftlösungen wird also durch relativ hohe Lecithinkonzentrationen stark gehemmt.

Tabelle 1. *Abhängigkeit der Lysocithinbildung von der Lecithinkonzentration* (Bienengift 1:100000, 3 Std bei 37°).

Lecithinkonz. bei Bebrütung	% Hämolyse bei einer Lecithin-Lysocithin-Verdünnung von		
	1:80000	1:120000	1:160000
1:160	19%	4%	4%
1:320	48%	19%	12%
1:640	98%	71%	51%
1:1280	100%	85%	78%
1:2560	94%	90%	79%

5. p_H-Abhängigkeit der Lecithase.

In Übereinstimmung mit Literaturangaben (Zeller) fanden wir das p_H-Optimum der Bienengiftlecithase beim Neutralpunkt. Die Aktivität stieg von p_H 5,2 über 5,9 zu 6,9 stark an, um dann bei p_H 8,0 wieder wesentlich schwächer zu sein (Schreen).

6. Temperatur und Lecithaseaktivität.

Die Lysocithinbildung zeigt bei Zimmertemperatur und bei 37° keinen wesentlichen Unterschied, ist dagegen bei 50° deutlich geringer.

Trotzdem wählten wir bei einer Reihe von Versuchen diesen Temperaturbereich, da in ihm, wie schon Zeller hervorhebt, das Bakterienwachstum mindestens teilweise behindert sein dürfte.

II. Beobachtungen.

Eine Reihe von Nebenbeobachtungen ist für die Beurteilung von Bienengifthämolysen im Vergleich zu solchen durch andere Stoffe von Interesse, zumal bisher genauere Angaben über dieses Spezialgebiet zu fehlen scheinen.

Um bei analogen Hämolysereihen eine erträgliche Schwankungsbreite zu erhalten, müssen bekanntlich Erythrocyten von möglichst gleichen Eigenschaften verwendet werden. Selbstverständlich zeigen die Erythrocyten verschiedener Tierarten auch gegenüber Bienengift erhebliche *Resistenzunterschiede* (vgl. S. 138). Aber auch *bei Menschenblut* sind die individuellen Abweichungen *beträchtlich*. Verwendet man Blut gesunder Spender, so können z. B. bei Bestimmung der 50%igen Hämolyse die Einzelwerte um etwa $\pm 10\%$ schwanken (vgl. Abb. 1 nach Markert), bei Benutzung von Patientenblut noch mehrfach stärker.

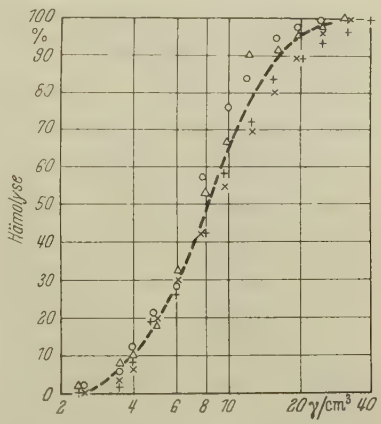


Abb. 1.
Wirkung eines Lysocithin-Lecithin-Gemisches auf Blutkörperchen gesunder Spender.
○ △ + × = 4 verschiedene Spender.
Abszisse: γ Lysocithin-Lecithin pro cm³.
Ordinate: % Hämolyse (1%ige Suspension).

Auch das *Alter der Erythrocyten*, d. h. die Zeit zwischen Entnahme und Verwendung, scheint eine stärkere Rolle zu spielen, als man bisher annahm. Nach Ponder soll sich eine Aufschwemmung roter Zellen in den ersten 6 Std nach der Entnahme gegen Hämolytika praktisch konstant verhalten. Wir beobachteten aber wiederholt schon innerhalb der ersten 4 Std eine deutliche Resistenzminderung gegenüber Bienengift (vgl. Tab. 2 nach Wagner).

Häufig kam es, besonders im ungepufferten, aber auch im gepufferten Medium zu *Trübungen*. Daher wurden bei relativ hohen Bienengiftkonzentrationen z. T. Absorptionen gemessen, die über jene einer durch Wasser bewirkten Totalhämolyse hinausgingen (Bauer). Ebenso trat bei Lysocithinhämolyse ein zusätzlicher Absorptionsfaktor gegenüber Parallelversuchen mit Bienengift- oder Wasserhämolyse auf (Claus). Es läßt sich also eine durch Bienen-Gesamtgift bedingte Hämolyse nicht ohne Vorbehalt mit einer durch Lysocithin ausgelösten

colorimetrisch vergleichen. Die angedeutete Unsicherheit der Messung muß meist in Kauf genommen werden, da ein Versuch zur Ausschaltung der Trübungen, etwa durch vergleichende Messungen in anderen Spektralgebieten, wegen des Zeitbedarfs kaum in Frage kommt.

Bei länger dauernden Versuchsreihen ist *möglichst steriles Arbeiten erforderlich*, da Bienengift durch Bakterien u. U. relativ rasch zerstört wird; die Lösungen dürfen nicht älter als einige Stunden sein.

Tabelle 2.
Abnahme der Resistenz der Erythrocyten mit dem Alter der Suspension[1].

Bienengift	Zahl der Minuten bis zur totalen Hämolyse			
	a	b	c	d
1: 100000	1,25	1,1	1,0	0,9
1: 200000	3,0	2,9	2,7	2,5
1: 300000	5,2	5,0	4,9	4,5
1: 400000	9,0	8,3	7,4	6,7
1: 500000	11,6	10,0	9,2	8,5
1: 600000	16,0	14,3	13,8	11,75
1: 700000	19,2	16,0	15,2	14,9
1: 800000	25,3	23,0	19,2	17,2
1:1000000	30,5	30,2	25,0	20,3

[1] Die Suspension war bei a, b, c und d zu Beginn der Hämolyse 1, 2, 3 und 4 Std alt.

Ein völlig steriles Vorgehen ist einstweilen nicht möglich, da Bienengiftlösungen durch Erhitzen oder beim Durchgang durch Bakterienfilter an Wirksamkeit verlieren können. Ob die Wirkungsabnahme, die bei längerem Stehen, namentlich in stark verdünnten Giftlösungen, bei Zimmertemperatur oder im Brutschrank eintritt, nur bakteriell bedingt ist, muß noch offen bleiben.

Beim Vergleich der visuellen und der photometrischen Ermittlung des Hämolysegrades stellte sich mehrfach heraus, daß subjektiv „komplette“ Hämolysen manchmal objektiv nur rund 90% an freigesetztem Hämoglobin enthielten. Ansätze, welche bei subjektiver Abschätzung als nicht oder nur wenig hämolysiert imponierten, zeigten andererseits nach dem Zentrifugieren Hämoglobingehalte, die einer 60—100%igen Hämolyse entsprachen. Eine Erklärung dieser starken Diskrepanz könnte einerseits die herabgesetzte Resistenz der anhämolysierten Erythrocyten gegen die mechanischen Einflüsse des Zentrifugierens liefern. Andererseits ist denkbar, daß bei einer zunächst noch wenig angegriffenen Erythrocytenwand die Diffusionsrate des Hämoglobins klein ist, daß aber die Bewegung beim Zentrifugieren den Austausch des Erythrocyteninhalts mit der Umgebung in analoger Weise beschleunigt, wie etwa die Diffusion aus einem Dialysierschlauch durch Bewegung der Außenflüssigkeit beschleunigt wird.

a) Hämolyse durch Gesamtgift.

Zur Charakterisierung der Bienengift-Hämolyse genügt nicht die Angabe einer hämolytischen „Grenz"-Konzentration, von der in älteren Arbeiten über Bienengifthämolyse meist nur die Rede ist. Schon bei subjektiver Beobachtung des Zeitpunktes der totalen Hämolyse liefern Bienengiftlösungen abgestufter Konzentration ganz andersartige Kurven als Saponine. Während bei Saponinen (vgl. PONDER) die bilogarithmisch aufgezeichnete Zeit-Verdünnungskurve nach steilem Anstieg bald horizontal ausläuft, steigt sie beim Bienengift viel länger an und wird innerhalb der verwendbaren Zeitspanne noch nicht horizontal.

Es läßt sich demnach eine „hämolytische Grenzkonzentration" höchstens für eine bestimmte Einwirkungszeit angeben. Andererseits ist aber bei einer Einwirkungsdauer von 40 bis 50 min der Eintritt einer Totalhämolyse durch Bienen-Gesamtgift mit objektiven und subjektiven Methoden gut zu verfolgen (vgl. Abb. 2 nach G. NEUMANN), während eine 50%ige Hämolyse durch Bienen-Gesamtgift wegen des steilen Kurvenanstiegs schwerer faßbar ist. In Abb. 2 ist gleichzeitig der Hämolysegrad verschiedener Konzentrationen von Lysocithin dargestellt.

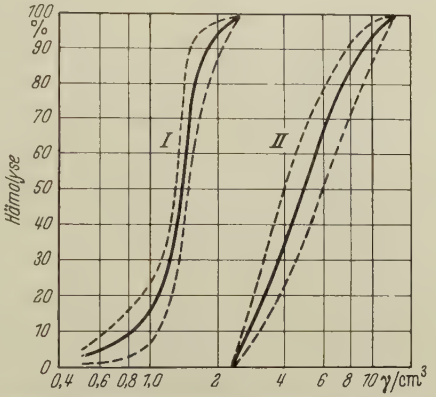


Abb. 2. Hämolyse durch Bienengift u. Lysocithin. (1%ige Suspension, 1 Std bei 37°). Abszisse: γ Bienengift (I) bzw. Lysocithin (II) pro cm³. Ordinate: % Hämolyse. Umstrichelte Fläche: Schwankungsbereich bei Parallelversuchen.

b) Einfluß von Erythrocytenmenge und -art auf die Bienengifthämolyse.

Werden 1-, 2- und 4%ige Erythrocytensuspensionen von Mensch, Rind und Schwein verschiedenen Konzentrationen von Bienengift ausgesetzt, so dauert die totale Hämolyse mit steigender Erythrocytenkonzentration immer länger. Eine feste Beziehung zwischen Hämolysezeit und Erythrocytenkonzentration war jedoch bei orientierenden Versuchen nicht zu erkennen (DREYER).

Die Resistenz verschiedener Erythrocytenarten gegenüber Bienengift ist schon von SCHÜTZ untersucht worden, der eine Resistenzabnahme in der Reihenfolge Kalb-Ente-Schwein-Ratte-Huhn-Frosch-Mensch-Gans-Kaninchen-Meerschweinchen-Katze-Hund fand. Da aber die erforderlichen Giftkonzentrationen bei Erythrocyten des Kalbes 1:150 betragen, bei denen des Hundes 1:2550, so dürfte die benutzte Giftlösung nicht besonders aktiv gewesen sein.

Bei unseren Versuchen mit 1-, 2- und 4%igen Aufschwemmungen von Blutkörperchen ergab sich bei kontrollierter Zellzahl eine Resistenzabnahme vom Schaf über Rind, Schwein und Pferd zum Menschen, die Empfindlichkeit der Zellen von Mensch, Katze, Ratte und Kaninchen lag näher beieinander. Besonders stark waren die individuellen Resistenzschwankungen bei Kaninchen und Schwein (Göbel).

c) Vergleichende Versuche mit 2 elektrophoretisch erhaltenen Bienengiftkomponenten.

Wie an anderer Stelle kurz mitgeteilt (Neumann und Habermann mit Amend), liefert Bienengift bei der Papierelektrophorese eine schnellere Fraktion (F I) und eine davon deutlich abgesetzte langsamere (F II), wobei das Mengenverhältnis F I : F II etwa 4 : 1 beträgt. Beide sind durch ihre Fluoreszenz im UV-Licht leicht zu lokalisieren und können aus dem Papier eluiert und aus diesen Lösungen wieder mit Pikrinsäure gefällt werden. Nach Entfernung der Pikrinsäure werden sie schließlich als nahezu farblose Pulver erhalten.

1. Direkte hämolytische Wirkung.

Eine 1,25%ige Aufschwemmung menschlicher Erythrocyten in Phosphatpuffer verhält sich gegenüber den Fraktionen und dem für die Elektrophorese benutzten Ausgangsgift in der aus Tab. 3 ersichtlichen Weise, wenn die Gifte 80 min einwirken.

Tabelle 3. *Hämolytische Wirkung von Bienengift und seinen elektrophoretischen Fraktionen.*

Verdünnung	Hämolysegrad bei		
	Gesamtgift	F I	F II
1: 20000	+++	+++	(+++)
1: 40000	+++	+++	—
1: 80000	+++	+++	—
1:160000	+++	+++	—
1:320000	+++	++	—
1:640000	+(+)	—	—

Die elektrophoretisch schnellere Fraktion F I hat im Vergleich zu dem Ausgangsgift durch die Elektrophorese etwas an Wirksamkeit verloren. Die Fraktion F II dagegen besitzt bei verschiedenen Herstellungen manchmal auch in einer Lösung 1:20000 keine direkte hämolytische Wirkung und ist ab 1:40000 unter den erwähnten Bedingungen stets wirkungslos. Bei Messung des durch Fraktion F I freigesetzten Hämoglobins ergab sich die in Abb. 3 wiedergegebene Kurve.

2. Indirekte hämolytische Wirkung.

Die Lecithaseaktivität ist auf die beiden Fraktionen I und II gerade umgekehrt verteilt wie die direkt hämolytische Wirkung. Nach Abb. 4 ist in einer Lösung 1:50000 von Fraktion II die Lysocithinbildung praktisch ebenso stark wie in einer Lösung 1:100000 des für die Elektrophorese benutzten Pikratgiftes[1]. Fraktion I dagegen zeigt selbst in der Konzentration 1:25000 noch keine Lecithasewirkung.

III. Besprechung.

Die sich ergebenden Schlüsse beruhen einerseits auf dem Nachweis, daß Bienengift elektrophoretisch zerlegt werden kann (Neumann, Habermann u. Amend), andererseits auf der von uns entwickelten Methode zur Untersuchung der Aktivität der Lecithase A. Wenn auch diese Methode schon wegen der oben erwähnten Resistenzschwankungen und -änderungen der Erythrocyten mit einer nicht unbeträchtlichen Fehlerbreite zu rechnen hat, so gestattet sie doch eine sichere Beantwortung der zunächst vorliegenden grundsätzlichen Fragen.

Im übrigen haftet jeder Bestimmung einer Lecithaseaktivität eine grundsätzliche Unsicherheit an: sowohl „Lecithin" als auch „Lysocithin" sind Gruppenbegriffe. Jedes in der Natur vorkommende Lecithin stellt nicht nur ein Gemisch der α- und β-Formen dar, deren optische Isomere noch weitere Komplikationen bedingen, sondern auch die Fettsäurekomponenten dürfen durchaus nicht als einheitlich betrachtet werden. Hinzu kommt, daß dieses kaum definierbare Gemisch dann noch gewisse Mengen von Kephalin — wieder ein Gemisch! — oft auch noch Sphingomyeline und andere Phospholipoide enthält. Schwankungen in der Zusammensetzung des jeweils benutzten Lecithins und damit auch des daraus durch Lecithase A entstehenden Lysocithins können wahrscheinlich auch Einfluß auf die schließlich auftretende hämolytische Wirksamkeit gewinnen.

So ist es wohl auch zu erklären, daß die Dosis-Wirkungs-Kurve von umkristallisiertem Lysocithin (Abb. 2, II) etwas weiter links liegt und auch etwas steiler ansteigt als die von „Lysocithin-Lecithin" (Abb. 1), welches direkt unter der Wirkung der Lecithase A aus Lecithin entstand und daher sicher noch Begleitstoffe enthielt. Bei Angaben über Lecithaseaktivität oder Lysocithinwirkung ist jedenfalls eine gewisse Schwankung von vornherein zu erwarten, und Vergleiche der Wirksamkeit verschiedener Lecithasepräparate können einstweilen nur Relativwerte liefern, denen das jeweils benutzte Standard-Lecithin zugrunde liegt.

Die Dosis-Wirkungs-Kurven der Hämolyse durch Bienen-Gesamtgift (Abb. 2, I), durch seine elektrophoretische Fraktion I (Abb. 3) und schließlich durch Lysocithin (Abb. 2, II) und das bei der Einwirkung von Bienengift auf Lecithin entstehende „Lysocithin-Lecithin" (Abb. 1)

[1] Anmerkung bei der Korrektur (Nov. 52): Inzwischen wurde Fraktion II mit relativ stärkerer Lecithasewirkung als im Pikratgift erhalten.

lassen bei einem Vergleich sofort die größere Steilheit beim Bienengift (Abb. 2, I) auffallen. Eine Steigerung des Hämolysegrades um 40 bzw. 50% erfordert hier nur eine Vermehrung der Konzentration um 25 bzw. 30%, während bei den Lysocithinpräparaten der gleiche Erfolg erst durch eine relativ 3mal so starke Dosissteigerung erzielt wird; Fraktion I nimmt eine Mittelstellung ein, erfordert aber ebenfalls eine wesentlich größere Konzentrationserhöhung (Tab. 4, 5. Spalte von links). Die Kinetik der Hämolyse durch Bienen-Gesamtgift ist also offensichtlich eine andere als bei den übrigen eben genannten Stoffen.

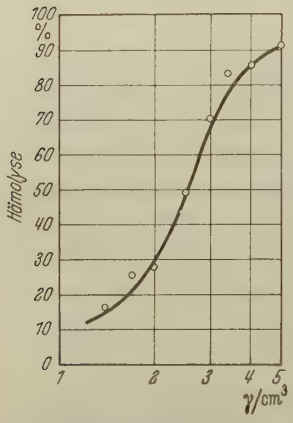


Abb. 3. Hämolyse durch Fraktion I (1%ige Suspension, 50 min bei 37°). Abszisse: γ/cm³. Ordinate: % Hämolyse.

Schon diese Tatsache läßt es als zweifelhaft erscheinen, ob die Bienengifthämolyse wirklich, wie man bis in die jüngste Zeit immer wieder annimmt, ausschließlich durch die lange bekannte Lecithase A des Giftes ausgelöst und letzten Endes nur durch Lysocithin herbeigeführt wird. Vollends erschüttert und widerlegt wird diese Auffassung durch die Feststellung, daß die von uns elektrophoretisch erhaltene Fraktion II des Giftes an gewaschenen Erythrocyten höchstens 10% der Wirkung von Fraktion I zeigt (Tab. 3), andererseits aber die gesamte Lecithaseaktivität des der Elektrophorese unterzogenen Giftes enthält. Fraktion I weist umgekehrt nach den bisher vorliegenden Versuchen keine Lecithase A auf (Abb. 4), greift aber serumfreie Blutkörperchen nahezu ebenso stark an wie das Gesamtgift (Tab. 3). Es ist sehr unwahrscheinlich, daß ihre hämolytische Wirkung am Lecithinbestand der Erythrocyten ansetzt, zumal bisher überhaupt keine Zusammenhänge zwischen der

Tabelle 4.

Zunahme der hämolytischen Wirkung mit der Konzentration der untersuchten Präparate.

Präparat	in Abb.	Erhöhung der Konzentration von γ/cm³	auf γ/cm³	um	Steigerung des Hämolysegrades
Bienengift	2	1,2	1,5	25%	um 40%
Fraktion I	3	2,0	3,0	50%	(von 30 auf
Lysocithin	2	3,8	6,1	61%	70%)
Lysocithin-Lecithin	1	6,0	10,5	75%	
Bienengift	2	1,15	1,5	30%	um 50%
Fraktion I	3	1,85	3,2	73%	(von 25 auf
Lysocithin	2	3,5	6,7	92%	75%)
Lysocithin-Lecithin	1	5,5	11,5	109%	

Wirkung von Bienengift auf serumfreie Erythrocyten und dem Lipoid- oder auch Cholesteringehalt der Zellen verschiedener Tierarten und des Menschen zu erkennen sind.

Tab. 5 führt die oben S. 138 genannten Blutarten in der Reihenfolge der von Göbel gefundenen Resistenzabnahme auf und bringt gleichzeitig Daten über Durchmesser, Oberfläche und Lipoidgehalt der einzelnen Arten aus der Monographie von Ponder, die durch Angaben von Jung und Wirth über den Cholesteringehalt ergänzt sind. Es ist kein Zusammenhang zwischen diesen Daten und der gefundenen Reihenfolge der Resistenz ersichtlich.

In diesem Zusammenhang müssen kurz Mitteilungen von Boese erwähnt werden, der ohne Hinweis auf ältere Arbeiten über die Lecithase A des Bienengiftes sich mit der hämolytischen Wirkung des Giftes beschäftigt hat und mit ihrer Hilfe den Lecithingehalt der roten Blutkörperchen erfassen und damit Krankheiten differenzieren will. Der diagnostische Wert einer von ihm angegebenen Schnellreaktion zum Luesnachweis ist schon von Seitz und Gastpar als nicht sehr hoch gekennzeichnet worden; u. a. reagiert bei niedriger Erythrocytenzahl auch Blut von Nichtluikern positiv. Unsere Untersuchungen dürften gezeigt haben, daß bisher keine Unterlage dafür besteht, die Empfindlichkeit von Blutkörperchen gegenüber Bienengift in Zusammenhang mit ihrem Lipoidgehalt bzw. mit dessen Veränderungen zu bringen.

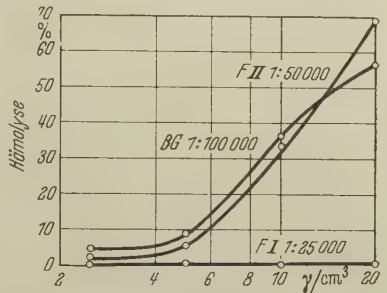


Abb. 4. Lecithaseaktivität von Bienengift und seinen Fraktionen. (Lecithin 1:5000 mit den angegebenen Giftkonzentrationen 3 Std bei 37° bebrütet. Auswertung des entstandenen Lysocithin-Lecithin-Gemisches an einer 1,25%igen Erythrocytensuspension.) Abszisse: γ Lysocithin-Lecithin pro cm³. Ordinate: % Hämolyse.

Die Wirkung des Bienen-Gesamtgiftes auf serumfreie Erythrocyten löst in erster Linie der in der elektrophoretischen Fraktion I vorhandene *direkt hämolysierende Faktor* aus. Daneben ist aber die über das Lysocithin, also *indirekt wirkende Lecithase A* nicht unbeteiligt. Wahrscheinlich

Tabelle 5. *Größe und Lipoidgehalt der Erythrocyten von Mensch und Tieren.*

Blutart	Durchmesser in Plasma[1] μ	Volumen[1] μ^3	Gesamtlipoidgehalt[2] pro Zelle mg $\times 10^{-10}$	Gesamtlipoidgehalt[2] pro μ^2 Zelloberfläche mg $\times 10^{-12}$	Cholesterin[2] pro Zelle mg $\times 10^{-13}$
Schaf . . .	5,2	32	2,43	5,6	0,75
Rind	6	58	2,22	3,9	1,15
Schwein . .	5,2	58	2,16	3,8	1,08
Pferd. . . .	7,7	52	—	—	—
Mensch . . .	8,4	84	3,94	4,2	1,65
Katze . . .	—	57	2,41	4,4	1,14
Ratte . . .	7,5	41	3,83	4,3	1,22
Kaninchen .	7,5	64	3,50	3,9	1,13

[1] Nach Ponder. [2] Nach Jung und Wirth.

kommt ihr ein unterstützender Effekt zu, den wir schon wegen der auffälligen Steilheit der Dosis-Wirkungs-Kurve des Gesamtgiftes annehmen möchten. Außerdem wird anscheinend bei allmählicher Steigerung der Zellzahl einer Erythrocytenaufschwemmung ein stärkerer hämolytischer Gesamteffekt erzielt, als wenn das Gift der schließlich erreichten Zellkonzentration bzw. -menge sofort zugesetzt wird. Anscheinend liefern die zunächst direkt hämolysierten Zellen der Lecithase A das Substrat zur Bildung von Lysocithin, und dieses fördert dann weiterhin, gewissermaßen autokatalytisch, die Hämolyse. Mit der näheren Untersuchung dieser und anderer Zusammenhänge sind wir beschäftigt.

Die Lecithase A ist wiederholt auch als Ursache sonstiger pharmakologischer Wirkungen des Bienengiftes diskutiert worden, z. B. von Grosse und Tauböck, die vor allem die antirheumatische Wirkung des Giftes dem entstehenden Lysocithin zuschreiben. Wie an anderer Stelle mitgeteilt (Neumann, Habermann und Amend), geht mit dem Lecithasegehalt der elektrophoretischen Fraktion II des Giftes eine starke Hemmung der Eidottergerinnung und Minderung der Bernsteinsäuredehydrierung im Rinderhirnhomogenat einher, während andererseits diese Wirkungen sich in der Fraktion I nicht oder nur schwach finden, dafür aber hier der direkt hämolysierende Faktor erscheint. Wir haben inzwischen noch gefunden, daß auch die Thrombokinaseinaktivierung überwiegend der Fraktion II zukommt, während die Kontrakturwirkung am Muskel ebenso wie die Herzwirksamkeit, die Lokalwirkung an der menschlichen Haut und die Allgemeintoxizität überwiegend in Fraktion I zu finden ist. Diese Fraktion hat an der Maus die gleiche intravenös tödliche Dosis wie das Ausgangs-Gesamtgift, während bei einigen orientierenden Versuchen die Fraktion II selbst mit der doppelten Dosis wirkungslos blieb. Von den vorzugsweise in Fraktion II zu findenden Wirkungen könnte die auf die Dotterkoagulation wohl mit der Lecithase in Verbindung gebracht werden. Wie weit vielleicht auch bei den anderen, anscheinend in Fermentreaktionen eingreifenden Wirkungen dieser Fraktion die Lecithase bzw. eine Abspaltung ungesättigter Fettsäure aus einem Phospholipoid beteiligt sein könnte, ist sicher interessant zu untersuchen. Sehr auffällig ist es jedenfalls, daß die Fraktion II bei der Papierelektrophorese sich klar von der Fraktion I absetzt und im Vergleich zu Fraktion I auf einen schmalen Streifen beschränkt ist, also relativ einheitlich zu sein scheint.

Zusammenfassung.

Neben der altbekannten Lecithase A enthält Bienengift einen weiteren, direkt hämolysierenden Faktor. Die schnelle und starke Wirkung des Giftes auf serumfreie Erythrocyten beruht in erster Linie auf ihm.

Bei der elektrophoretischen Aufteilung des Giftes findet sich das direkt wirkende Hämolysin in der schneller wandernden, die Lecithase in der langsameren Fraktion.

Zur Bestimmung der Lecithaseaktivität wird Standard-Lecithin zu Lysocithin umgesetzt und dieses an einer Erythrocytensuspension ausgewertet.

Methodische Einzelheiten, Besonderheiten der Bienengifthämolyse, Fragen von Reaktionsmechanismus und -kinetik und des Zusammenhanges der beiden Fraktionen mit sonstigen pharmakologischen Wirkungen des Giftes werden untersucht bzw. erörtert.

Literatur.

Bauer, G.: Diss. Würzburg 1952. — Belfanti, S.: Z. Immun.forschg **56**, 449 (1928). — Boese, W.: Z. Immun.forschg **107**, 470 (1950); **108**, 63 (1950); — Med. Klin. **1951**, 49. — Neue Med. Welt **1950**, Nr. 11. — Claus, E.: Diss. Würzburg 1951. — Contardi, A., und P. Latzer: Biochem. Z. **197**, 222 (1928). — Delezenne, C., u. E. Fourneau: Bull. Soc. Chim. **15**, 421 (1914). — Dreyer, W.: Diss. Würzburg 1951. — Fairbairn, D.: J. of Biol. Chem. **157**, 633 (1945). — Goebel, H.: Diss. Würzburg 1951. — Grosse, A., u. K. Tauböck: Z. Rheumaforschg. **5**, 429 (1942). — Havemann, R., F. Jung u. B. v. Issekutz: Biochem. Z. **301**, 116 (1939). — Jung, F., u. L. Wirth: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 328 (1950).— Levene, P. A., u. I. P. Rolf, J. of Biol. Chem. **55**, 743 (1923). — Levene, P. A., I. P. Rolf u. H. S. Simms: J. of Biol. Chem. **58**, 859 (1924). — Markert, H. A.: Diss. Würzburg 1952. — Neumann, G.: Diss. Würzburg 1952. — Neumann, W., E. Habermann u. G. Amend: Naturwiss. **39**, 286 (1952). — Pangborn, M.: J. of Biol. Chem. **188**, 471 (1951). — Ponder, E.: Hemolysis and related phenomena, New York 1948. — Reinert, M.: Barell-Festschr. (Zürich 1936) S. 407; — Schweiz. med. Wschr. **23**, 515 (1937). — Schreen, B.: Diss. Würzburg 1951. — Schütz, P.: Diss. Erlangen 1936, zit. n. Ber. ges. Physiol. **101**, 520. — Seitz, W., u. H. Gastpar: Med. Klin. **1952**, 111. — Tetsch, Chr., u. K. Wolff: Biochem. Z. **288**, 126 (1936).—Wagner, H.: Diss. Würzburg 1950.—Zeller, E. A.: „Enzymes as Essential Compounds of Bacterial and Animal Toxins" in Sumner, I. B., u. K. Myrbäck: „The Enzymes" Vol. I, Part 2; 986 (New York 1951).

Prof. Dr. W. Neumann, Würzburg, Pharmakol. Institut der Universität, Koellikerstr. 2.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 144—152 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Farbenfabriken Bayer, W.-Elberfeld.

Zur Pharmakologie der Phosphorsäureester*.

Diäthylthiophosphorsäureester des Äthylthioglykol („Systox-Wirkstoff").

Von

WOLFGANG WIRTH.

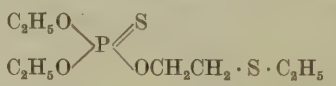
Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 18. Juni 1952.)

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Phosphorsäureester, der als Wirkstoff eines Pflanzenschutzmittels etwas Neuartiges darstellt, pharmakologisch-toxikologisch untersucht. Während die meisten Insecticide entweder Fraß-, Einatmungs- oder Kontaktgifte sind, handelt es sich hier um ein sogenanntes „systemisches" Insecticid. Dieses wird beim Begießen oder Besprühen von der Wurzel und den Blättern noch im Wachstum befindlicher Pflanzen leicht aufgenommen und bleibt wochenlang in dem Leitgewebesystem der Pflanzen gegen saugende Insekten wirksam.

Das erste phosphorhaltige Insecticid dieser Art, Octamethylpyrophosphorsäureamid (OMPA, Pestox III, nach seinem Erfinder auch „Schradan" genannt), ist besonders im Ausland bekannt geworden. Eine 10fach so starke „systemische" Wirkung besitzt das hier in Frage stehende Insecticid „Systox". Wie praktisch alle wichtigen insecticiden Phosphorverbindungen verdanken wir auch diese neue Stoffgruppe G. SCHRADER.

Nach seinen Angaben liegt im Systox als Wirkstoff Diäthylthiophosphorsäureester des Äthylthioglykol vor von der Formel:

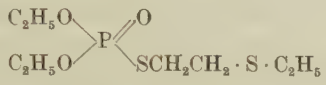


(I)

Zur pharmakologischen Untersuchung wurde uns von G. SCHRADER eine gereinigte Probe dieses Wirkstoffes zur Verfügung gestellt: ein farbloses, leicht bewegliches Öl mit intensivem Eigengeruch, Kp bei 1,2 mm 128° C, $D_4^{21°}$ 1,119. Von diesem Stoff (I) enthielt nach der chemischen Analyse die Probe 95%, weiterhin 4,6% der isomeren Verbindung (II); chemisch reiner Wirkstoff (I) ist sehr schwer zu erhalten. [In technischen Systoxpräparaten ist der Anteil an dem Isomeren (II) größer.]

* Herrn Professor Dr. WOLFGANG HEUBNER zum 75. Geburtstag gewidmet.

Im Hinblick auf die pharmakologischen Beziehungen, die sich zwischen den Isomeren einer verwandten Gruppe ergaben (E 605 vgl. Hecht und Wirth), wurde auch hier der isomere Stoff in die Untersuchung einbezogen:



(II)

Kp bei 1 mm 128° C, D $\frac{21°}{4°}$ 1,132.

Das Isomere unterscheidet sich vom Systox-Wirkstoff demnach durch die Stellung des Schwefels am zentralen Phosphoratom.

Beide Stoffe sind in organischen Lösungsmitteln leicht, in Wasser Systox-Wirkstoff (I) schwer, das Isomere (II) etwas leichter löslich. Die Flüchtigkeit von Wirkstoff (I) und dem Isomeren (II) ist etwa gleich groß, sie beträgt nach Bestimmungen im Labor. Schraders bei 20° C 3,5 mg/m³, bei 40° C 25 mg/m³, sie liegt 1—2 Zehnerpotenzen höher als bei E 605.

In der *Toxizität für Warmblüter* zeigten beide Verbindungen nach unseren Untersuchungen erhebliche quantitative Unterschiede: DL 50 an der nüchternen Ratte per os für Systox-Wirkstoff (I) bei 7,5 mg/kg, für das Isomere (II) bei 1,5 mg/kg. Der Systox-Wirkstoff und das Isomere wurden hierbei in 0,1 %iger Emulsion unter Benutzung von Emulgator 233 (polyoxäthyliertes Phenol) einverleibt*. Die Zahlen gelten für männliche Tiere.

Die DL 50 für die Maus subcutan betrug bei Systox-Wirkstoff (I) 15 mg/kg, für das Isomere 6 mg/kg. Auch hier Verwendung des Emulgators 233. Das Geschlecht wurde hier nicht berücksichtigt.

Bei beiden Stoffen war nach toxischen Dosen das *Vergiftungsbild* etwa gleich:

Nach peroraler oder subcutaner Zufuhr einer toxischen Dosis trat bei Ratten an den Ohren beginnend fibrilläres Muskelzucken nach ½ bis 1 Std auf, das sich allmählich über den ganzen Körper ausbreitete. Gleichgewichtsstörungen, Defäkation, Harnabgang, starker Speichelfluß und Würgen gehörten zu den weiteren Symptomen. Auffällig war die Absonderung rot gefärbter Tränenflüssigkeit**. Bei stärkeren Dosen kam es zu klonisch-tonischen Krämpfen und Tod im Atemmuskelkrampf innerhalb weniger Stunden.

---

* Dieser Emulgator hat keinen Einfluß auf die Toxizität von Systox (I) und seinem Isomeren (II) bei oraler oder subcutaner Anwendung oder bei Inhalation. Dagegen wird durch ihn die Resorption der Wirkstoffe durch die Haut, also bei percutaner Einwirkung, stark gehemmt.

** Die Ausscheidung „roter Tränen", Chromodakryorrhoe, wurde von Freud bei der Ratte nach Einwirkung muscarinartiger Stoffe beobachtet und von Figge als Ausscheidung von Protoporphyrin aus der Harderschen Drüse erkannt.

Nicht selten trat auch der Tod in einem mehr kachektischen Zustand nach einigen oder mehreren Tagen ein. Wird die Vergiftung überlebt, so klingen die meisten Symptome relativ rasch innerhalb von 24 Std. wieder ab. Am längsten ist eine gewisse Bewegungsarmut, häufiges Gähnen und fibrilläres Muskelzucken zu beobachten.

Durch Behandlung mit 5 mg/kg Atropin i. p. im Anschluß an die subcutane Zufuhr von Systox-Wirkstoff (I) ist bei Mäusen eine sonst tödliche Dosis zu entgiften. Auch bei der Ratte sind die Vergiftungssymptome durch Atropin-Behandlung stark zu mildern und die Zahl der überlebenden Tiere zu erhöhen. Über weitere Entgiftungsversuche vgl. S. 146.

Weiterhin wurden folgende Einzelwirkungen untersucht: Auf den *Blutdruck* der narkotisierten Katze waren 0,1—1 mg/kg i. v. Systox-Wirkstoff (I) ohne charakteristische Wirkung, nach 2 mg/kg trat nach einigen Minuten Blutdrucksturz und Tod ein. Vorherige Atropin-Gabe (5 mg/kg i. v.) hatte auf diesen Ausgang keinen Einfluß.

Am *isolierten Froschherz* nach Straub war bei Systox-Wirkstoff (I) erst ab 10^{-4} leichte negative Inotropie feststellbar. Atropin blieb ohne Einfluß auf diese Wirkung. Am *isolierten Meerschweinchenherzen* nach Langendorff führten 100 γ zu Verminderung der Kontraktilität des Herzmuskels und zu leichter Herabsetzung des Coronardurchflusses. Geringere Konzentrationen blieben ohne Wirkung. [Systox-Wirkstoff (I) wurde bei dieser Versuchsanordnung in entsprechender Verdünnung mit Tyrode in den zuführenden Schlauch zur Herzkanüle eingespritzt.]

Am *isolierten Kaninchendarm* zeigten sich durch Wirkstoff (I) und das Isomere (II) bei 10^{-7} bis 10^{-5} in wechselndem Grade vorübergehend Tonussteigerungen. Bei einem Teil der Versuche blieb diese Wirkung aber auch aus. Stärkere Konzentrationen hoben Tonus und Peristaltik auf. Auch am *isolierten Rattendarm* wirkten Konzentrationen um 10^{-4} lähmend auf Tonus und Peristaltik und brachten Kontrakturen durch Beriumchlorid oder Acetylcholin zur Aufhebung. Das gleiche wurde am *isolierten Mereschweinchendarm* bei der Histamin-Kontraktur beobachtet.

Am *Kaninchendarm in situ* nach Trendelenburg kam es nach 2—5 mg/kg i. v. Systox-Wirkstoff (I) zu vorübergehendem Tonusanstieg. Auf die gleichzeitig registrierte Atmung und den Blutdruck waren erst 5 mg/kg von Einfluß: Hier kam es für etwa 1 min zu Atemstillstand und in dieser Zeit zu biphasischer Blutdruckschwankung, dann setzte die Atmung spontan wieder ein. Bei dem Isomeren (II) wurde der Atemstillstand bereits bei 2 mg/kg beobachtet; auch hier spontane Erholung. Während diese Versuche an narkotisierten Tieren durchgeführt wurden, wurde die *Atmung* in der Anordnung nach Forst an nichtnarkotisierten Kaninchen geprüft:

Systox-Wirkstoff (I) zeigte hier bei 0,1—2 mg/kg i.v. keinen Einfluß, der isomere Stoff führte nach Einwirkung von 2 mg nach Minuten zu Krämpfen und Tod. Geringere Konzentrationen waren auch hier ohne Wirkung.

Am *Auge* der Katze verursachte Einträufelung einer Verdünnung 1:1000 (unter Emulgatorzusatz) von Systox-Wirkstoff (I) sehr schwache Miosis. Die gleiche Konzentration des Isomeren (II) ist etwas stärker miotisch wirksam, aufhebbar mit Atropin. 1:6000 der isomeren Verbindung (II) war ohne Wirkung.

Die Einwirkung der Stoffe auf die *Cholinesterase-Aktivität** wurde nach der manometrischen Methode von Ammon in der Warburg-Apparatur untersucht.

In den Hauptteil des Warburg-Troges wurden jeweils 1,5 cm³ der Ferment- und Hemmstoff-Lösung gegeben, in den Seitenarm 0,5 cm³ einer 1,5%igen Acetylcholinchlorid-Lösung = 7,5 mg Acetylcholinchlorid „Roche". Für die Herstellung aller Lösungen wurde Ringer (30) benützt. Gasgemisch aus 5% CO_2 und 95% N_2. Versuchstemperatur 37,5° C. Ablesung der Manometer alle 10 min. Der Berechnung der Acetylcholin-Spaltung wurde die innerhalb 40 min entwickelte CO_2-Menge nach Abzug der Eigenhydrolyse des Acetylcholins zugrunde gelegt. Für In-vitro-Versuche dienten Blut und Gewebe männlicher Ratten von 180—200 g. Zum Vergleich mit älteren Versuchen sind auch einige Bestimmungen mit Pferdeserum und Rinder-Erythrocyten durchgeführt worden. Die ChE-Bestimmungen wurden gemeinsam mit R. Plankert ausgeführt.

In Tab. 1 sind die ermittelten Werte für 50%ige Hemmung in vitro angegeben.

Tabelle 1. *Versuche in vitro.*

Fermentpräparat	Molare Konzentration für 50%ige Hemmung	
	Systox-Wirkstoff (I)	Isomere Verbindung (II)
Pferdeserum	$0{,}68 \cdot 10^{-6}$	$0{,}39 \cdot 10^{-7}$
Rindererythrocyten	$2{,}42 \cdot 10^{-6}$	$0{,}97 \cdot 10^{-7}$
Rattenserum	$1{,}94 \cdot 10^{-6}$	$0{,}97 \cdot 10^{-7}$
Rattenerythrocyten	$2{,}33 \cdot 10^{-6}$	$2{,}03 \cdot 10^{-7}$
Rattengroßhirn	$2{,}91 \cdot 10^{-6}$	$0{,}87 \cdot 10^{-7}$
Ratten-Submaxillardrüse	$3{,}39 \cdot 10^{-6}$	$2{,}42 \cdot 10^{-7}$
Ratten-Skeletmuskel (M. glut. max.)	$3{,}88 \cdot 10^{-6}$	$1{,}94 \cdot 10^{-7}$
Rattenleber	$3{,}88 \cdot 10^{-6}$	$1{,}94 \cdot 10^{-7}$

Um den Einfluß der Stoffe auf die ChE *in vivo* zu studieren, erhielten männliche Ratten von 180—220 g Gewicht 5 mg Systox-Wirkstoff (I)/kg per os (= $^2/_3$ DL 50) in Gummi arabicum-Verreibung verabreicht. Je 2 Ratten wurden durch Entbluten aus der Bauchaorta in leichter Äthernarkose 3 Std (auf dem Höhepunkt der Vergiftungssymptome) und 1—15 Tage nach der Giftverabreichung getötet und die ChE-Aktivität von

* Cholinesterase im folgenden mit ChE abgekürzt.

Serum, Hirn und Skeletmuskulatur untersucht. Das Ergebnis siehe in Tab. 2, in der auch die Vergiftungssymptome zum Zeitpunkt der Tötung angegeben sind:

Tabelle 2. *Einmalige Verabreichung von 5 mg Systox-Wirkstoff (I)/kg per os an Ratten.*

Tötung der Tiere nach der Giftaufnahme	ChE-Aktivität in Proz.* (Mittelwerte von je 2 Tieren)			Symptome bei Tötung der Tiere
	Serum	Hirn	Muskel	
3 Std . . .	6,0	16,1	17,2	Starke fibrilläre Zuckungen, Speicheln, rote Tränen
1 Tag . . .	64,1	42,0	28,5	Hochbeiniger Gang, häufiges Gähnen
3 Tage . . .	111,6	65,3	36,6	keine
6 Tage . . .	138,1	91,7	60,3	keine
10 Tage . . .	137,1	93,7	67,3	keine
15 Tage . . .	110,1	96,6	80,4	keine

In Tab. 3 finden wir den entsprechenden Versuch mit der isomeren Verbindung (II) bei Anwendung der äquivalent toxischen Dosis = 1 mg/kg Ratte per os (= $^2/_3$ DL 50):

Tabelle 3.
Einmalige Verabreichung von 1 mg isomere Verbindung (II)/kg per os an Ratten.

Tötung der Tiere nach der Giftaufnahme	ChE-Aktivität in Proz.* (Mittelwerte von je 2 Tieren)			Symptome bei Tötung der Tiere
	Serum	Hirn	Muskel	
3 Std. . . .	8,0	23,6	16,1	Starke fibrilläre Zuckungen, Speicheln, rote Tränen
1 Tag. . . .	44,5	50,9	39,7	Hochbeiniger Gang, häufiges Gähnen
3 Tage . . .	118,4	90,3	69,4	keine
6 Tage . . .	136,4	106,1	90,5	keine

* Bezogen auf die Cholinesterase-Aktivität der entsprechenden Gewebe nicht vergifteter Tiere = 100% (Mittelwerte von 10 Tieren).

Weiterhin wurde der Einfluß *wiederholter* Zufuhr auf die ChE-Aktivität untersucht. Zu diesem Zweck erhielt eine Gruppe von männlichen Ratten 1 mg Systox-Wirkstoff (I)/kg = $\frac{1}{7{,}5}$ DL 50 täglich an 31 aufeinanderfolgenden Arbeitstagen oral verabreicht. Als Symptom einer leichten Vergiftung zeigte sich etwa nach der 3.—4. Verabreichung lediglich leichte Muskelschlaffheit und häufiges Gähnen, dagegen kein Muskelzittern und auch kein Augentränen. Die Vergiftungssymptome schwanden wenige Tage nach Beendigung der Giftzufuhr. Jeweils 24 Std. nach der 3., 6., 13., 20. und 31. Giftaufnahme wurde die ChE-Aktivität in Serum, Hirn und Skeletmuskel an je 2 Tieren bestimmt. Die

Erholung der ChE-Aktivität wurde 3, 9 und 15 Tage nach der letzten (31.) Giftzufuhr untersucht. Das Ergebnis dieser Versuche ergibt sich aus der Abbildung 1.

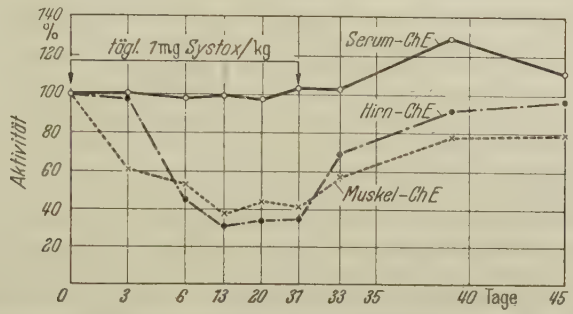


Abb. 1. Verlauf der ChE-Aktivität bei 31 Tage langer Zufuhr von täglich 1 mg Systox-Wirkstoff (I)/kg per os an Ratten. Mittelwerte von je 2 Tieren.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Das Vergiftungsbild an der Ratte charakterisiert Systox-Wirkstoff (I) und sein Isomeres (II) als cholinergisch wirksam, ähnlich wie wir dies bei Mintacol und in der E 605-Gruppe beschrieben haben (vgl. Wirth, Hecht u. Wirth). Auch bei der Registrierung von Einzelwirkungen zeigte sich diese Parallelität: am Blutdruck der Katze und des Kaninchens, am isolierten Frosch- und Meerschweinchenherz, am isolierten Darm von Kaninchen und Ratte ebenso wie am Kaninchendarm in situ, an der Atmung und schließlich an der Katzenpupille. Der muscarinartige Anteil an den Wirkungen ist hierbei etwas geringer als bei der E 605-Gruppe, der nicotinartige tritt etwas stärker hervor. Das kann auch aus dem etwas schwächeren Atropin-Antagonismus bei den Einzelwirkungen geschlossen werden. Jedoch ergab sich am ganzen Tier die Antidot-Wirkung des Atropins etwa vom gleichen Umfang wie bei E 605. Systox-Wirkstoff erwies sich als ein starker Hemmer für die sogenannten unspezifischen und spezifischen ChE (vgl. Tab. 1). Zum Vergleich seien die Werte für 50%ige Hemmung von Rattenhirn durch Mintacol mit $0{,}8 \cdot 10^{-8}$ und durch Eserinsulfat mit $3{,}6 \cdot 10^{-6}$ molar angegeben (eigene Versuche). Die Differenzen in der Empfindlichkeit der ChE des Hirns und der peripheren Gewebe der Ratte gegenüber Systox-Wirkstoff waren relativ gering.

In der E 605-Gruppe hatten wir festgestellt, daß die Derivate der Phosphorsäure wesentlich wirksamer sind als die der Thiophosphorsäure. Dies finden wir auch hier in der Systox-Gruppe: Die $>P(=O)-$-Verbindung (II) ist auf die ChE in vitro etwa 10—30mal wirksamer als die $>P(=S)-$-Verbindung (I) und 5mal wirksamer

in der Toxizität der Ratte per os. Es sei aber darauf hingewiesen, daß diese gewisse Parallelität zwischen Toxizität und ChE-Hemmung in vitro am Warmblüter keineswegs etwa eine allgemeine Eigenschaft der insecticiden Phosphorsäureester ist. Die oftmals bei diesen Estern sehr unterschiedliche Resorption, Verteilung sowie ihr Schicksal im Organismus haben vielfach — wie neuere Versuche zeigten — einen erheblichen Einfluß auf ihre Toxizität und unter Umständen auch auf den Wirkungscharakter, so daß Vorhersagen auf Grund der ChE-Hemmung in vitro nur beschränkt möglich sind. Ein eindrucksvolles Beispiel dieser Art ist „Schradan": Nach DuBois[1] hemmt dieser Stoff in vitro erst dann — auch die Hirn-ChE —, wenn er vorher mit Leberbrei behandelt worden ist, wobei sekundär ein wirksamer Stoff entsteht. Am Tier, in dem der Stoff ebenfalls umgewandelt wird, hemmt er nur die peripheren ChE, dagegen nicht die des Hirns (Blut-Hirnschranke!). Neuerdings ist von Diggle u. Gage nachgewiesen worden, daß chromatographisch hochgereinigtes E 605 (Diäthyl-p-nitrophenylthiophosphat) nur etwa den 100. Teil der bisher an reinen Produkten gefundenen In-vitro-Hemmung ausübt bei sonst unveränderter Toxizität. Diesen Befund konnten wir an einem von Schrader chromatographisch gereinigten E 605-Präparat bestätigen. Nach Diggle u. Gage entsteht im Organismus aus E 605 durch Umlagerung sekundär ein isomerer Stoff mit starker ChE-Hemmung. Es scheint, daß zu solchen Umwandlungen im Organismus vorzugsweise die Thiophosphorsäureester neigen, dagegen nicht Phosphorsäureester wie Mintacol (Diäthyl-p-nitrophenylphosphat); vgl. Aldridge u. Barnes. Unter diesem Gesichtspunkt ist natürlich auch der Wirkstoff von Systox als Thiophosphorsäureester zu überprüfen.

Als ein wesentlicher Unterschied gegenüber der Eserin-Gruppe, deren Fermentbindung in vitro und in vivo als reversibel nachgewiesen ist, wird diese Bindung bei den Phosphorsäureestern als irreversibel angesehen. Dies wird aus der Feststellung gefolgert, daß der Phosphorsäureester-Fermentkomplex durch Dialyse, Verdünnung usw. nicht getrennt werden konnte; vgl. Lit. bei Koelle u. Gilman. Bei dem von angelsächsischen Autoren besonders eingehend untersuchten Diisopropylfluorphosphat (DFP) ist das gleiche auch für In-vivo-Verhältnisse geschlossen worden, da sich die Erholung der ChE-Aktivität auch nach einmaliger Vergiftung über Wochen und Monate hinzieht. Im Pflanzenschutz, wo natürlich Stoffe möglichst geringer Warmblüterwirkung erwünscht sind, ist eine derartig nachhaltige Herabsetzung der ChE-Aktivität als Nachteil anzusehen. Wir haben daher diese Frage für Systox an Ratten nach ein- oder mehrmaliger Vergiftung untersucht: In unseren Versuchen mit einmaliger Giftzufuhr hatten wir nach dem Abfall der ChE-Aktivität auf 10—20% der Norm schon nach 1 Tag wieder einen erheblichen Anstieg der Aktivität festgestellt. Im Hirn war die normale Aktivität nach 1 Woche bzw. 2 Wochen bei dem Isomeren (II) bzw. Systox-Wirkstoff (I) wieder erreicht (vgl. Tab. 2 und 3). Dieser Befund weist deutlich auf eine ziemlich rasche Elimination des Giftes hin. Die Aktivität des Serums überstieg bei beiden Giften bereits nach 3 Tagen den Normwert und fiel dann langsam wieder zur Norm ab. Dies erinnert an überschießende Gegenregulationen, wie sie im vegetativen System vielfach vorkommen. Nachdem die physiologische Rolle der Serum-ChE noch nicht geklärt ist, verzichten wir auf eine Deutung dieses Befundes. Der Wiederanstieg der Aktivität im Muskel hinkte in jedem Fall nach.

Bei dem Versuch mit chronischer Zufuhr einer einzeln unwirksamen Dosis vonSystox-Wirkstoff (I) befand sich nach wenigen Tagen die Zufuhr und Elimination des Stoffes bzw. die Erholung der ChE-Aktivität von Hirn und Skeletmuskel in einem Gleichgewicht, wie sich aus der gleichbleibenden Herabsetzung der ChE-Aktivität und den immer gleichbleibenden Vergiftungssymptomen ergab (Abb. 1). Die Aktivität im Serum erscheint bei unserer Darstellung des Versuches nicht

geändert, solange Systox-Wirkstoff zugeführt wurde. Dies hängt damit zusammen, daß wir die ChE-Aktivität jeweils 24 Std nach der Stoffverabreichung bestimmt haben. Diese Werte sind in Abb. 1 verwendet. Wurde 3 Std nach der Giftzufuhr die Bestimmung der ChE-Aktivität durchgeführt, so fand sich diese im Serum auf etwa 50% der Norm herabgesetzt, um innerhalb 24 Std wieder den Normwert zu erreichen. Wir sehen also auch bei dieser Versuchsanordnung immer eine rasche Erholung der ChE im Serum. Nach Beendigung der Zufuhr von Systox-Wirkstoff erfolgte auch im Hirn relativ rasch Wiederanstieg der ChE-Aktivität: nach 2 Wochen war die Norm erreicht, während der Muskel auch hier nachhinkte.

Gegenüber den Versuchen von Mazur u. Bodansky, die nach DFP Erholung der ChE-Aktivität im Hirn erst nach über 2 Monaten feststellen konnten, ergaben demnach unsere Versuche mit Systox-Wirkstoff eine wesentlich kürzere Zeit. Wenn diese Autoren von einer Zerstörung der ChE durch DFP mit nachfolgender Regeneration sprechen, so glauben wir demgegenüber berechtigt zu sein, nach Einwirkung von Systox-Wirkstoff in vivo eine relativ rasche Elimination und wenigstens teilweise eine Reaktivierung des Fermentes annehmen zu dürfen. Wir bezweifeln also, ob die bisherige Anschauung von der Irreversibilität der Phosphorsäureester-Fermentbindung in vivo bei Systox-Wirkstoff Gültigkeit hat. Auf gleicher Linie liegt der Befund von Du Bois[2] mit Parathion, der noch raschere Erholung der Hirn-ChE-Aktivität beobachtet hat.

Beachtenswert erscheint uns auch, daß die ersten Vergiftungssymptome in unseren Versuchen erst dann eintraten, wenn die ChE-Aktivität in Hirn und Skeletmuskel auf die Hälfte der Norm herabgesetzt war, während stärkere Vergiftungssymptome erst bei Herabsetzung auf 10—20% der Norm beobachtet wurden.

Schließlich sei erwähnt, daß sich Systox-Wirkstoff und sein Isomeres im Mechanismus der Fermentwirkung durchaus den bekannten übrigen inselticiden Phosphorsäureestern anschließen, wie einige eigene Versuche ergaben: Bei den Versuchen im Warburg-Apparat wird üblicherweise das Gemisch Ferment + Hemmstoff zu dem Substrat zugesetzt. Wird die Reihenfolge geändert und Systox-Wirkstoff zu Rattenhirn zugesetzt, dessen ChE bereits aktiv Acethylcholin spaltet, so hemmt der Wirkstoff auch in sehr hoher Konzentration nicht. Dies Verhalten gilt auch für andere Ester, z. B. für Tetraäthylpyrophosphat (Burgen). Es wird als Beweis dafür angesehen, daß die Phosphorsäureester im Fermentkomplex die gleichen Stellen belegen wie Acetylcholin, daß also die Hemmung der ChE durch die Phosphorsäureester eine kompetitive ist. Weiterhin konnten wir diese blockierende Wirkung des Acetylcholins auch durch Eserin erreichen, sowohl im Warburg-Trog als auch am ganzen Tier. Dies äußert sich darin, daß mit Eserin eine deutliche Schutzwirkung gegenüber Systox-Wirkstoff am Tier erreicht werden kann.

Der Eserinschutz wurde auch bei anderen Substanzen gefunden, z. B. bei DFP (durch Koster, Koelle), bei E 605 (durch Du Bois[2]), bei Mintacol (eigene Versuche). Durch Kombination mit Atropin kann die Schutzwirkung des Eserins sehr gesteigert werden, jedoch hat diese Feststellung nur theoretisches Interesse,

da Eserin nach dem vorher Gesagten zwar prophylaktische, aber keine kurative Wirkung besitzt. Für die Therapie beim Menschen ist auch nach Systox-Einwirkung die Verabfolgung hoher Atropin-Dosen zu empfehlen.

Zusammenfassung.

1. Der Wirkstoff des systemischen Insecticids „Systox" (Diäthylthiophosphorsäureester des Äthylthioglykol) und eine isomere Verbindung, bei der die Stellung des Schwefels am zentralen Phosphoratom geändert ist, sind cholinergisch wirksam.

2. Das Vergiftungsbild und die toxischen Dosen bei der Ratte, weiterhin die Einzelwirkungen am Blutdruck, Atmung, Darm, isolierten Frosch- und Meerschweinchenherz und an der Katzenpupille entsprechen etwa denjenigen von Diäthyl-p-nitrophenylthiophosphat (E 605).

3. Systox-Wirkstoff hemmt in vitro die unspezifischen und spezifischen Cholinesterasen zu 50% in der Größenordnung 10^{-6} molar, das Isomere in der Größenordnung 10^{-7} molar.

4. Die Cholinesterase-Aktivität von Serum, Hirn und Skeletmuskel der Ratte erholte sich nach einmaliger Vergiftung innerhalb von Tagen, am raschesten das Serum, langsamer der Muskel, in der Mitte stand das Hirn. Die Aktivität des Hirns war nach einmaliger oder nach chronischer Einwirkung von Systox-Wirkstoff nach 14 Tagen wiederhergestellt, bei dem Isomeren schon nach einer Woche.

Es wird angenommen, daß es sich bei dieser relativ raschen Erholung — im Gegensatz zu DFP — zumindestens teilweise um eine Reaktivierung des Fermentes handelt.

Literatur.

Aldridge, W. N., and J. M. Barnes: Nature (Lond.) **4296**, 345 (1952). — Ammon, R.: Pflügers Arch. **233**, 486 (1934). — Methoden der Fermentforschg **2**, 1585 (1941). — Burgen, A. S. V.: Brit. J. Pharmacol. **4**, 219 (1949). — Diggle, W. M., and J. C. Gage: Biochemic. J. **49**, 491 (1951). — DuBois, K. P., J. Doull and J. M. Coon: J. of Pharmacol. [1]99, 376 (1950); [2]95.79 (1949). — Figge, F. H. J.: Amer. Assoc. Adv. Sci. Research Conf. on Cancer 1945, S. 117; zit. nach A. S. V. Burgen: Brit. J. of Pharmacol. **4**, 185 (1949). — Freud, J.: Acta brev. neerl. Physiol. **3**, 159 (1933). — Hecht, G., u. W. Wirth: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 264 (1950). — Koelle, G. B.: J. of Pharmacol. 88. 232 (1946). — Koelle, G. B., and A. Gilman: Pharmacol. Reviews **I**, 166 (1949). — Koster, R.: J. of Pharmacol. 88, 39 (1946). — Mazur, A., and O. Bodansky: J. of Biol. Chem. **163**, 261 (1946). — Plankert, R.: Zur Wirkungsweise der Phosphorsäureester. Inaug.-Diss. Düsseldorf 1952. — Schrader, G.: Z. angew. Entomol. **33**, 1 (1951). — Die Entwicklung neuer Insektizide auf Grundlage organischer Fluor- und Phosphorverbindungen. Verlag Chemie, Monographie, **62**, 2. Aufl. 1952. — Wirth, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 545 (1949).

Prof. Dr. W. Wirth,
Wuppertal-Elberfeld, Pharmakol. Institut der Farbenfabriken Bayer.

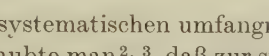
Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 153—161 (1953).

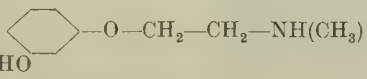
Zur Pharmakologie einiger basischer Phenoläther, darunter solcher mit sympathicomimetischer Wirkung*.

Von
Oskar Eichler und Willi Plewa.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. Juli 1952.)

Nach den ersten systematischen umfangreichen Untersuchungen von Barger u. Dale[1] glaubte man[2, 3], daß zur sympathicomimetischen Wirkung die Molekülgruppierung  notwendig sei. Bovet u. Simon[4] waren die ersten, die im 1180 F eine Substanz anderer Gruppierung mit sympathicomimetischer Wirkung fanden. Die Konstitution dieser Verbindung

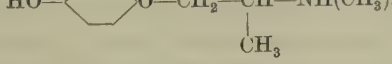


zeigt in einer Seitenkette Analogie mit der des Adrenalins. Die überwiegende Zahl untersuchter Substanzen ähnlicher Konstitution erwiesen sich als sympathicolytisch. Man kann dabei an Gesetzmäßigkeiten denken, wie sie bei den Antivitaminen in großen Untersuchungsreihen in neuester Zeit gefunden wurden[8].

Kürzlich wurde man mit einer analogen Moleküländerung bekannt[5], die ähnlich Benzedrin pressorische und atmungserregende Wirkungen aufwies. Die genauere pharmakologische Analyse unterblieb. Da man nach Raymond-Hamet[6] in der Gruppe der Adrenalinkörper und verwandter Phenoläther z. B. im Hordenin Verbindungen findet, die auf dem Umweg über die sympathischen Ganglien, also nicotinähnlich wirksam sind, bedeutet der Nachweis einer Drucksteigerung noch keine Sicherung einer sympathicomimetischen Wirkung. Diese Bemerkung erscheint uns notwendig, weil bei Phenolen und ihren Estern[7], teilweise dem Krampf vorhergehend, durch Reizungen des Vasomotorenzentrums auch Blutdrucksteigerungen möglich sind.

Untersuchungsobjekte der ersten Gruppe.

C 1621 hat folgende Konstitution:

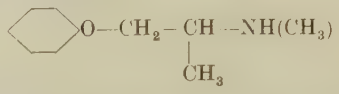


* Herrn Professor Dr. W. Heubner zum 75. Geburtstag gewidmet.

Die in diesen Untersuchungen verwendeten Substanzen wurden uns von der CILAG (Alsbach, Bergstraße) zur Verfügung gestellt.

Wir verwandten das salzsaure Salz, von dem leicht 5% Lösungen hergestellt werden können. Analysenrein hat es einen Schmelzpunkt von 168,5—170°. Die wäßrigen Lösungen sind bei Zutritt von Sauerstoff und besonders Licht nicht lange haltbar, sie werden unwirksam. In 1—3 Tagen entsteht eine rötliche, später bräunlich-schwarze Farbe. Die trockene Substanz hält sich gut, kann aber bei freiem Luftzutritt eine bräunliche Farbe annehmen. Diese Umsetzung bedeutet keinen Wirkungsverlust, der erst in Lösung erfolgt.

C 1622 hat folgende Konstitution:



Die Verbindung gleicht der vorher behandelten, nur daß die zweite freie phenolische Hydroxylgruppe fehlt. Ihr Siedepunkt liegt bei 110—111° (11 mm). 5% Lösungen sind von dem salzsauren Salz (Schmelzpunkt 98 - 99°) leicht herzustellen.

Methodik.

Die Blutdruckschreibung erfolgte mit dem Broemserschen Glasplattenmanometer der Firma Jaquet (Basel). Die sonstigen Verfahren zur Prüfung des Kreislaufs sind allgemein gebräuchlich und bekannt. Die Injektionslösungen wurden jeweils vor Beginn des Versuches frisch hergestellt. Die Kreislaufwirkung wurde an mit Urethan oder Urethan + Chloralose-Gemisch (nach Straub und Triendl) narkotisierten Katzen geprüft. Dekapitation fand in Äthernarkose statt. Von Beginn des Versuches blieben die Tiere bei künstlicher Atmung mindestens 1 Std liegen. Stets wurde für gute Wärme der Tiere Sorge getragen. Die Toxizitätsbestimmungen erfolgten an Mäusen und gelegentlich an Kaninchen. An diesen wurde das Verhalten der Körpertemperatur und der Blutzucker bestimmt.

Der Kreislauf.

Nach i. v. Injektion von C 1621 kommt es zur *Blutdruck*steigerung. Der Anstieg erfolgt langsam. Nach s. c. Injektion gibt es eine Latenzzeit. Die Dauer des Anstiegs beträgt mehrere Stunden. Wir haben ihn besonders bei i. v. Gabe ausführlicher studiert. Die ersten Wirkungen beginnen bei 1 mg/kg, allerdings nur von kürzerer Dauer. Die maximale Wirkung ist bei 5 mg/kg erreicht und läßt sich kaum durch Steigerung der Dosis vermehren. Wie bei anderen Adrenalinkörpern findet sich häufig am Anfang eine flüchtige Blutdrucksenkung. Diese kann bei Steigerung der Dosis auf 25 mg/kg und darüber deutlicher und sogar vorherrschend werden (s. u.). In der überwiegenden Zahl der Versuche dauern die Drucksteigerungen beim unvorbehandelten Tier über 2 bis 4 Std. Ihr absoluter Betrag hält sich beim nicht vorbehandelten Tier in mäßigen Grenzen (40—50 mm Hg), auch bei Steigerung der Dosierung.

Nach peroraler Zufuhr von Dosen bis 150 mg/kg war eine Drucksteigerung, wenn überhaupt, höchstens angedeutet nachweisbar.

Die Wirkung von C 1622 begann bei einer etwas kleineren Dosis und ist von kürzerer Dauer (15—30 min).

Wie bei allen anderen langdauernd wirkenden Adrenalinkörpern finden wir eine ausgesprochene *Tachyphylaxie.*

Eine Superposition der Wirkungen ließ sich leichter bei kleinerer Dosis (z. B. 2—3 mg) als bei größeren nachweisen. Schließlich hört die Blutdrucksteigerung völlig auf. Nur die anfängliche Blutdrucksenkung bleibt dann bestehen. Im übrigen unterliegen nicht alle Organe in gleicher Weise diesem Prozeß, wie schon in früheren Versuchen mit anderen Substanzen (z. B. Veritol, Ephedrin[10] oder Histamin[9]) nachgewiesen wurde.

In Analogie zu den anderen Adrenalinkörpern fand sich die gekreuzte Tachyphylaxie auch hier. Diese — von uns[10] zuerst bemerkt — wurde von Orczechowski bei Behrens einer ausführlichen Analyse unterzogen. Sie bedeutet, daß die Vorbehandlung z. B. mit Ephedrin die Wirkung einer folgenden Injektion von Veritol verhindert und umgekehrt. So ließ sich die Wirkung von C 1621 durch Vorbehandlung mit Ephedrin oder C 1622, nicht aber durch andere konstitutionsmäßig ähnlich gebaute Substanzen verhindern, wenn diese keine sympathicomimetische Wirkung zeigten. Diese gegenseitige Vertauschbarkeit läßt auf einen ähnlichen Angriffspunkt im kleinen schließen.

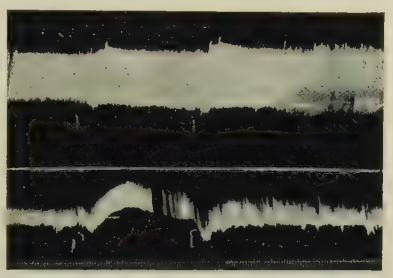


Abb. 1. Katze, weiblich, Urethan. Thorax eröffnet, oben Cardiometerkurve, unten Blutdruck. Zweite und dritte Injektion von 5 mg/kg C 1621. Tachyphylaxie, die bei der Cardiometerkurve noch nicht wirksam wird.

Als Begleiterscheinung der Blutdrucksteigerung findet sich eine Vergrößerung der *Pulsamplituden*, die häufig die Drucksteigerung überdauert. Die Pulsfrequenz ist dabei in keiner Phase verlangsamt, sondern meist kurz dauernd sogar etwas gesteigert. Das scheint gemeinsam mit dem gesteigerten Druck und der Vergrößerung der Amplituden auf eine günstige *Herzwirkung* hinzuweisen.

Um diese Frage weiter zu verfolgen, wurden Versuche am *isolierten Froschherzen* nach Straub vorgenommen. Jedoch konnte eine günstige Wirkung weder am normalen noch am hypodynamen Herzen gefunden werden, die eine Ähnlichkeit mit der von Adrenalin hätte. Die Konzentrationen bis 10^{-4} erwiesen sich als völlig indifferent, erst von 10^{-3} ab zeigte sich Hemmung der Schlagfrequenz und der Amplitude.

Dagegen war an den Cardiometerkurven am Tier in situ bei eröffnetem Thorax eine Vermehrung des Schlagvolumens nachweisbar, wie wir auf Abb. 1 zeigen.

Auf dieser Abbildung, die auch zur weiteren Illustration der Tachyphylaxie dient, sehen wir, wie bei der zweiten Injektion die Blutdrucksteigerung zwar noch vorhanden war, aber abgekürzt, bei der dritten nur

noch die vorübergehende Drucksenkung übrigbleibt, ausgenommen die Amplituden des Pulses und der Cardiometerkurve. Hier wiederholt sich das gleiche, was wir schon früher bei Veritol und Ephedrin fanden[10].

Eine günstige Herzwirkung zeigt sich auch bei der Schreibung des Vorhofdruckes bei eröffnetem Thorax.

Wir geben die Begünstigung der Herzarbeit durch Sinken des Vorhofdruckes bei vollendeter Tachyphylaxie auf Abb. 2 wieder, während Adrenalin zur Drucksteigerung infolge steigenden Blutdrucks führt. Eine Senkung des Vorhofdruckes würde jedoch auch dann entstehen, wenn der Zufluß vom rechten Herzen geringer würde. Dafür gibt es jedoch keinen Anhaltspunkt. Unsere Auffassung wurde zudem auch durch schon früher erwähnte Argumente fundiert. Die Milzkontraktion als Zeichen für die Entleerung der Blutspeicher war bei C 1621 von kürzerer Dauer als der Anstieg des Blutdrucks. Bei C 1622 dauerten beide etwa gleichlang.

Abb. 2. Katze, weiblich, Urethan. Obere Kurve: Druck im linken Vorhof. Untere Kurve: Blutdruck. Durch Vorbehandlung mit C 1622 wurde Tachyphylaxie erzielt. 10 γ/kg Adrenalin führen noch zur Blutdrucksteigerung bei Anstieg im Vorhof, während nach 10 mg/kg C 1621 der Blutdruckanstieg ausbleibt, aber der Vorhofdruck als Zeichen einer besseren Herzarbeit sinkt.

Analyse der Wirkung.

Wenn man auch einen Teil der Blutdrucksteigerung auf eine vermehrte Herzarbeit zurückführen kann, so steht doch noch eine Reihe anderer Möglichkeiten offen.

1. *Angriff am Vasomotorenzentrum.* Um das auszuschalten, haben wir Katzen dekapitiert. Der Blutdruckanstieg war entsprechend dem geringeren Ausgangsdruck größer, seine Dauer eher länger wegen fehlender Gegenregulationen.

2. *Adrenalinausschüttung aus der Nebenniere.* Dies war unwahrscheinlich wegen der zu langen Wirkung. Nach Exstirpation beider Nebennieren wurde zudem der Druckanstieg genau so erzielt.

3. *Reizung der sympathischen Ganglien.* a) Um das auszuschließen, wurden die Ganglien im Bereich der Nn. Splanchnici entfernt. Der Effekt blieb erhalten. b) Gabe von Nicotin und Pendiomid änderte auch nichts. Der unter Pendiomid auf letale Höhen gebrachte Druck wurde durch beide Substanzen über den Ausgangspunkt gesteigert.

Nach diesen Versuchen blieb ein Angriff an der Gefäßmuskulatur übrig. Jedoch konnte am Laewen-Trendelenburgschen Gefäßpräparat des Frosches erst durch Injektion von 0,1—0,5 cm^3 einer 1%-Lösung

eine nachhaltige Gefäßkontraktion erzielt werden. Diese fehlende oder sehr schwer zu erhaltende Wirkung ist bei anderen dem Ephedrin ähnlichen Substanzen auch bekannt[12], besonders am Froschpräparat.

Wenn nach Hydergin die Adrenalinwirkung umgekehrt wird, braucht das noch nicht regelmäßig mit anderen Substanzen dieser Reihe zu erfolgen. Trotz Dibenamin konnte noch mit Veritol eine Blutdrucksteigerung erfolgen[11].

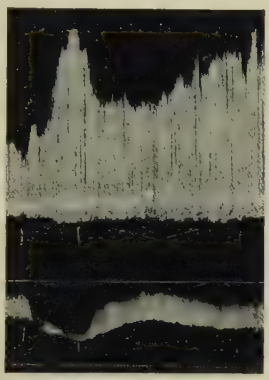


Abb. 3.

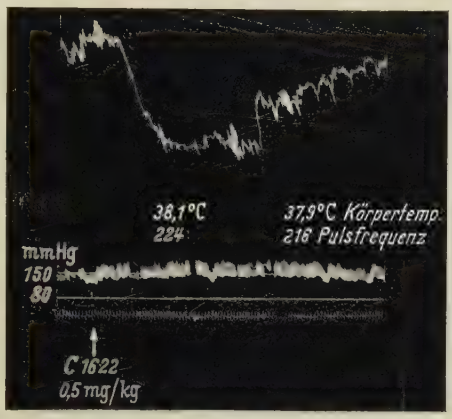


Abb. 4.

Abb. 3. Katze, Urethan-Chloralose-Gemisch. Thorax geöffnet. Obere Kurve: Bronchialschreibung nach der Methode von TIEFENSEE mit Spirometer im Nebenschluß. Untere Kurve: Blutdruck. Nach Vorbehandlung mit 0,5 mg/kg Pilocarpin zeigt sich eine Bronchialkonstriktion, die durch 5 mg/kg C 1622 vorübergehend beseitigt wird. Der Blutdruck steigt, die Amplituden nehmen zu.

Abb. 4. Katze, STRAUBS Urethan-Chloralose-Gemisch. 0,5 mg/kg C 1622 zweite Injektion. Obere Kurve Darm, untere Blutdruck.

Weitere glatte Muskulatur.

Das Verhalten der *Bronchialmuskulatur* prüften wir nach der Methode von TIEFENSEE[13]. Den Effekt sehen wir auf Abb. 3.

Die Lösung des durch Pilocarpin induzierten Bronchialkrampfes ist flüchtig. Im Prinzip findet sich auch hier eine dem Ephedrin analoge Wirkung.

Der Darm *in situ* reagiert, wie man es von einer sympathicomimetischen Substanz erwarten kann, mit Erschlaffungen. Diese sind schon in Dosen deutlich, die auf den Blutdruck noch nicht einwirken. Die Wirkung von C 1622 sehen wir auf Abb. 4 (1621 besitzt eine Wirkung, die die auf den Blutdruck überdauert).

Der isolierte Darm des Meerschweinchens reagierte nicht, auch nicht, wenn man seinen Tonus durch $BaCl_2$ steigerte. In diesem Fall kam es sogar zur Tonussteigerung. Diese Tonussteigerung gehört keineswegs zu den notwendigen Effekten, die ohne $BaCl_2$ zu verzeichnen wären. Bei C 1622 haben wir diesen Befund nicht erhoben. Wenn man die Histaminkontraktion zur Grundlage der Prüfung wählt, zeigt sich kein entsprechender Effekt, eine Antihistaminwirkung erst bei Konzentrationen von 10^{-4}, bei C 1622 bei 10^{-2}.

Die *Pupillenweite* bei Einträufeln von 1% Lösungen beider Substanzen in den Bindehautsack des Kaninchens änderte sich nicht.

Verschiedene Wirkungen.

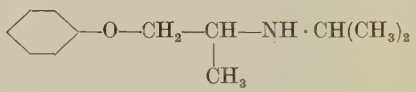
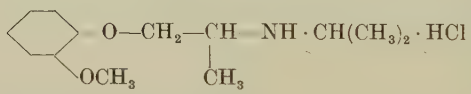
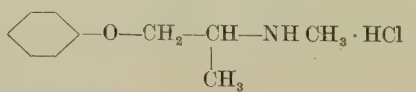
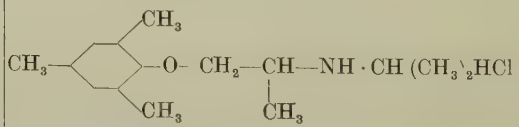
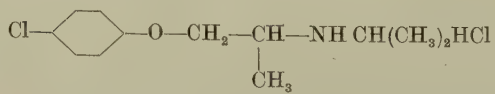
Die *Atmung* der Katze wurde bei den üblichen Dosen beider Substanzen in Frequenz und Amplitude vermehrt. Bei höheren Dosen (25 mg/kg und mehr) konnte eine Lähmung deutlich werden, besonders bei C 1622.

Die *Körpertemperatur* stieg bei der Katze nach C 1622 gelegentlich an. Das ließ sich in zahlreichen Versuchen an nicht narkotisierten Kaninchen nicht wiederholen.

Der *Blutzucker*, nach Hagedorn-Jensen beim Kaninchen verfolgt, änderte sich nicht.

Toxizität.

Die Toxizität wurde bei C 1621 an 75 weißen Mäusen geprüft. Die LD_{50} betrug 1035 mg/kg. Es handelt sich also um eine wenig giftige Substanz. C 1622 (an 40 weißen Mäusen) hatte eine LD_{50} von 424 mg/kg. Das Vergiftungsbild äußerte sich hauptsächlich in Krämpfen nicht sehr ausgesprochener Natur, man kann hier

Bezeichnung	Konstitution	L.D.50 s.c. Mäuse mg/kg	Blutdruck
C 1623	 Siedepunkt 118,0—119° Chlorhydrat Schmelzpunkt 135° Leicht löslich	200—300 Krämpfe Lungenödem	unsicher, manchmal Steigerung auch nach Dekapitation, Adrenalinsteigerung unterdrückt
C 1677	 Schmelzpunkt 135—137° Salzsaures Salz hygroskopisch	300—400 Krämpfe Lungenödem	wechselnd, vorwiegend Senkung bei 5 mg/kg bedrohlich
C 1685	 Schmelzpunkt 136—137° Salzsaures Salz leicht löslich	400—500 Krämpfe Lungenödem	Senkung 5 mg/kg bedrohlich. Amplituden kleiner
C 1686	 Schmelzpunkt 162—164° Leicht löslich	150—200 tonische Krämpfe Lungenödem	Senkung 5 mg/kg ad Exitum führend
C 1738	 Schmelzpunkt 162—164° Leicht löslich	300—400 Krämpfe Lungenödem	von 3 mg/kg Senkung für 5 min

den Phenolcharakter wiedererkennen. Der Tod erfolgte innerhalb weniger Minuten bis zu 1 Std. Spättodesfälle traten nicht ein. Die histologische Untersuchung zeigte stets Lungenödem geringen Ausmaßes, das das Ödem nach Adrenalin nie erreichte. In Herz, Leber, Milz und Niere fanden sich keine Besonderheiten.

Kaninchen ohne Narkose vertrugen i. v. Gaben von 0,1621 bis 50 mg/kg ohne Vergiftungsbild, auch nur Seitenlage, darzubieten.

Weitere Verbindungen.

Die Resultate mit den anderen von uns untersuchten Substanzen und ihre Konstitution geben wir in Form beiliegender *Tabelle* wieder. Bei keiner der Substanzen wurde eine Wirkung auf die Bronchialmuskeln, die Pupillenweite oder die Körpertemperatur beobachtet.

Atmung	Froschherz	Leewen-Trendelenburg	Milz	Wirkung am Darm		
				in situ	isoliert	Histaminhemmung
schon bei 5 mg/kg irreversible Lähmung und Exitus	Schädigung ab $4 \cdot 10^{-4}$	—	kurze Kontraktion	Kontraktion	oberhalb 10^{-4} gelegentlich Kontraktionen	ab 10^{-5}
irreversible Lähmung bei 5 mg/kg	Schädigung ab 10^{-5}	±	wechselnd, stets nur kurzdauernd	Kontraktionen ähnlich 1623, aber von längerer Dauer	Keine Wirkung	ab 10^{-5}
5 mg/kg spontan reversible Lähmung	$5 \cdot 10^{-4}$ teilweise spontan reversible Schädigung	—	Erschlaffung	Kontraktion bei 0,1 bis 0,5 mg/kg	Kontraktion von $BaCl_2 \cdot 10^{-5}$ durch 10^{-6} gelöst	ab 10^{-5}
1 mg/kg Förderung 3 bis 5 mg/kg Schädigung	Schädigung oberhalb 10^{-6}	±	Erschlaffung	Kontraktion von 1 mg/kg	Erschlaffung von 10^{-5} ab auf $BaCl_2$ von 10^{-3} ab	ab 10^{-5}
					Kontraktion von 10^{-2} ab	fehlt

Diskussion.

Die hier nur tabellarisch angeführten Substanzen besitzen keine sympathicomimetische Wirkung mehr wie die beiden ersten. Im Gegenteil überwiegt die Blutdrucksenkung. Einbau eines längeren aliphatischen Restes - hier der Isopropylgruppe — an den basischen Stickstoff der Seitenkette begünstigt diesen Effekt, wie bei den anderen Adrenalinkörpern. Das gleiche wird erreicht, wenn eine Hydroxylgruppe in o-Stellung in den Benzolring eingeführt wird, so daß also Derivate des Brenzkatechins entstehen.

Eine Wirkung auf die sympathischen Nerven (analog den von Fourneau hergestellten Substanzen) mit Aufhebung einer Adrenalin-Kontraktion war nur mit einer Substanz (C 1623) zu erreichen. Es ergab sich trotz hoher Dosen keine Umkehrwirkung, zudem dauerte der Effekt nur kurze Zeit.

Die längere Dauer der Blutdrucksteigerung bei C 1621 mit ihrer freien Hydroxylgruppe entspricht der These von Ariens[14], daß diese Gruppe für den pressorischen Effekt unerheblich ist.

Nach den Darlegungen von Orczechowski ist die Tachyphylaxie als Sympathicolyse aufzufassen. Man könnte zu dem gleichen Schluß geführt werden, wenn man sieht, daß die beiden sympathicomimetischen Substanzen unserer bisherigen Untersuchungsreihe im Zustand der Tachyphylaxie viel ausgesprochener zu einer vorübergehenden Blutdrucksenkung führten. Das wäre dann einer Adrenalin-Umkehr analog. Wir möchten diese Möglichkeit nur erwähnen, ohne uns dazu zu bekennen. Denn eine kurze initiale Blutdrucksenkung finden wir auch ohne Tachyphylaxie.

Neu ist in der zweiten Gruppe gegenüber den zuerst beschriebenen Substanzen die Wirkung auf den Darm, der eindeutig zur Kontraktion gebracht werden kann. Dieselbe Reaktionsform ließ sich in früheren Versuchen[10] auch im Verlauf der Tachyphylaxie von Ephedrin beobachten, hier jedoch war sie mit Sicherheit zu erreichen.

Am isolierten Darm war eine Antihistaminwirkung zu sehen, und zwar bereits in kleineren Konzentrationen. Eine Ausnahme machte C 1738, das an sich schon in kleinsten Konzentrationen zur Darmkontraktion führte. Eine Empfindlichkeit auf 10^{-9} war nicht stets zu erreichen. Manchmal waren Konzentrationen von 10^{-7} notwendig. Bei den von uns untersuchten Substanzen benötigte eine Antihistaminwirkung am Darm bei den beiden Verbindungen mit sympathicomimetischen Eigenschaften eine um 3 Zehnerpotenzen höhere Konzentration als bei den anderen.

Zusammenfassung.

Es wird über eine Reihe basischer Phenoläther berichtet, von denen zwei sympathicomimetische Eigenschaften besitzen. Diese steigern den Blutdruck auch nach Dekapitation, Nebennierenexstirpation und Entfernung der Bauchganglien, nach Nicotin und Pendiomid. Sie besitzen

eine gekreuzte Tachyphylaxie. Die Amplitudenvermehrung des Herzens unterliegt diesem Prozeß weniger. Eine perorale Wirkung ließ sich kaum nachweisen.

In einer zweiten Gruppe von Substanzen finden sich diese Eigenschaften nicht, eine Antihistaminwirkung wird erst in hohen Konzentrationen erreicht.

In mancher Hinsicht laufen die Änderungen des Erscheinungsbildes den Abwandlungen der Konstitution parallel, wie bei der Reihe der Adrenalinkörper.

Literatur.

[1] Barger and H. H. Dale: J. of Physiol. **41**, 19 (1910/11). — [2] Löwe: Z. exper. Med. **6**, 335 (1918). — [3] Bunichi Hasama: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **153**, 161 (1930). — [4] Bovet, D., et A. Simon: Ann. de Physiol. **12**, 705 (1936). — [5] Hurd, C. D., and P. Perletz: Amer. Chem. Soc. **68**, 38 (1946). — [6] Raymond-Hamet: C. r. Soc. Biol. Paris, **121**, 112 (1936). — [7] Ellinger, A.: Heffter-Heubners Handbuch d. exp. Pharmakologie, Bd. 1, S. 871. Springer 1923. — [8] Marquardt, P.: Die Pharmacie **4**, 249 (1949) Übersicht. — [9] Eichler, O., u. H. Mügge: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **159**, 633 (1931). — [10] Eichler, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **187**, 429 (1937). [11] Eichler, O., E. Klar u. F. Linder: Klin. Wschr. **27**, 710 (1949). — [12] Schaumann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **160**, 127 (1931). — [13] Ther: Pharmakologische Methodik. — [14] Ariens, E. J., zit. nach Ronas Berichten **148**, 95 (1952).

Prof. Dr. O. Eichler, Heidelberg, Chirurgische Universitäts-Klinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 162—172 (1953).

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Rostock
(Direktor: Professor Dr. B. Karitzky).

Tierexperimentelle Untersuchungen zur Pathogenese der „reflektorischen Anurie".

Von

Gerd Kuhlgatz.

(Eingegangen am 26. Juni 1952.)

Als reflektorische Anurien werden seit Israel[1] jene Formen bezeichnet, bei denen einseitige Vorgänge an der Niere oder im Bereich der ableitenden Harnwege reflektorisch zur Hemmung der Harnproduktion beiderseits führen.

Wenn wir das Wesentliche der Reflexwirkung darin sehen wollen, daß es zu einem schlagartigen Aussetzen der Funktion beider Nieren kommt, ohne daß eine mechanische Verlegung der Abflußwege oder des Blutzustroms zur Niere vorliegt, so müßten wir unseres Erachtens alle die Anuriezustände dazuzählen, die das plötzliche Auftreten gemeinsam haben, selbst wenn sie durch die verschiedenartigsten Ereignisse verursacht werden: Anurien nach unverträglichen Bluttransfusionen (de Navaquez[2]; Foy, Altmann, Barnes, Kondi[3]; Oehlecker[5]; Schütz[6]; Letterer u. Masshoff[7]; Fahr[8]; Goinard[4]; Fanconi[9] u. a.), Anurien im Anschluß an schwere Traumen, wie Verschüttung, ausgedehnte Muskelquetschung (Frankenthal[10]; Minami[14]; Brass[16]; Borst[11]; Hackradt[13]; Bredauer[12]; Bingold[15]; Beall[17]; Bywaters u. Mitarb.[18]; Lucké[19]; Trueta u. Mitarb.[20]; Loustalot[21]; Tracy[22]; Bourret u. Mitarb.[23]; Simeone usw.[24]), Starkstromunfälle (Baker[27]; Brunner[25]; H. Fischer[26]; M. B. Schmidt[28]), schwere Verbrennungen (Pfeiffer[29]; Walker[30]; Zinck[31]) und postoperativ auftretende akute anurische Zustände (Bürger u. Grauhan[32]; Boeminghaus[33]; Geisthövel u. Kirchhoff[34]).

Wir haben experimentell zu klären versucht

1. was die in ihrer Ätiologie so voneinander verschiedenen akuten Anurien in bezug auf ihren Entstehungsmechanismus verbindet und
2. welche Bedingungen bewirken, daß ein gleichartiger Insult im einen Fall das schwere Bild einer Anurie erzeugt, im anderen nicht.

Unsere Untersuchungen mußten folgerichtig von dem Krankheitsbild ausgehen, das von Israel[1] als „reflektorische Anurie" enger umrissen wurde: Von der akuten Harnlosigkeit, wie sie auftritt im Anschluß an einseitige Störungen des Harnabflusses durch Steineinklemmung, Gerinnsel usw., am häufigsten dann, wenn eine Kolik sie begleitet. Infolge von Manipulationen an den Harnorganen (einseitiger Ureterenkatheterismus, Cystoskopie, Prostataresektion) oder nach Eingriffen an anderen Beckenorganen kann sie ebenfalls entstehen (Rubritius[35], Casper[36]; Haberer[37]; Baetzner[38]; Ascoli[39]; Averbeck u. Schneider[40]).

Wenn auch die in der Literatur mitgeteilten zahlreichen Fälle für den reflektorischen Charakter dieser Anurien sprechen, so wird doch ihre Entstehung auf rein nervösem Wege von anderer Seite in Frage gestellt (Guyon; Kümmel[41]; Kielleuthner u. Schlagintweit[42]). Im Tierversuch ist es durch vorwiegend mechanische Reize, wie sie in der Urologie praktisch vorkommen, entweder gar nicht (Fahr u. Gmelin[43]; Pflaumer[44]; Wulff[45]) oder nur in einem gewissen Prozentsatz (Goetze[46]; Ozawa[47]; Ghiron[48]; Übelhör[49]; Springorum[50]; Jungmann[51]) gelungen, eine vollkommene Unterdrückung der Harnproduktion zu erzielen. Dagegen konnte man anscheinend durch einseitige faradische Reizungen im Splanchnicusgebiet mit größerer Sicherheit reflektorisch eine beiderseitige Hemmung der Urinproduktion erzeugen (Blatt[52]; Jungmann u. Meyer[53]; Hammesfahr[54]; Kitamura[55]).

Nach neueren Untersuchungen (Trueta u. Barclay[20]; Gömöri[56]; Suermondt[57]; Tracy[22]; van Slyke[58]; Goodwin, Sloan u. Scott[59]) löst der elektrische Insult vom Splanchnicus, aber auch von anderen Orten aus (Ischiadicus, unteres Rückenmark) einen neurovasalen Reflex aus, der zur Vasokonstriktion und zum Gefäßkurzschluß in der Niere führt. Das ist nach den genannten Autoren der Weg, über den neurogene Faktoren zur Entstehung einer Anurie führen können.

In der Absicht, das Krankheitsbild der r. A. experimentell zu reproduzieren, haben wir in Anlehnung an das Vorgehen von Trueta das Verfahren der faradischen Reizung der Nierenstielnerven gewählt, weil sie nach allen Mitteilungen unter den verwendeten Methoden die aussichtsreichste schien.

In einer 1. Versuchsserie nahmen wir 11 Kaninchen, meist im Gewicht von 3—4 kg. Zur Prüfung der Nierenfunktion wurde die Ausscheidung von 0,5%igem indigoschwefelsaurem Carmin nach intravenöser bzw. intramuskulärer Zufuhr herangezogen und Beginn, Stärke und Dauer der Farbstoffausscheidung beobachtet. Der Urin wurde durch Katheterismus der Blase, zur gesonderten Beurteilung der Funktion von linker und rechter Niere mit eingeführten Ureterenkanülen abgefangen. Die pro Zeiteinheit abgesonderte Urinmenge konnte dann durch Tropfenzählung bestimmt werden. Das Verfahren zeichnet sich durch seine Einfachheit aus; es ist an sich ungenau, genügt aber für unsere Fragestellung vollkommen zur Beurteilung der Nierenfunktion.

Die Tiere wurden vor den Versuchen unter gleichen Bedingungen gehalten (gleicher Standort, konstante Außentemperatur, gleiche Futtermenge, Futterzusammensetzung und Wasserzufuhr). Zur Anästhesie benutzten wir Vollnarkose, und zwar Äther bis zur Erreichung des Toleranzstadiums.

Bereits bei der Einleitung der Narkose sahen wir regelmäßig eine Herabsetzung der Urinproduktion, die 4mal in eine bis zum Ende der Narkose anhaltende Harnlosigkeit überging. Diese Beobachtung stimmt mit ähnlichen von Haines, Wilbier u. Milliken[60] und Pringle[61] überein, die sie bei ihren Untersuchungen über den Einfluß der Äthernarkose auf die Diurese am Hund machten. In späteren Untersuchungen konnten wir immer wieder feststellen, daß die Harnabsonderung allein durch die Narkose beeinflußt wurde. Deshalb führten wir sämtliche folgenden Versuche an unnarkotisierten Tieren durch.

An 11 Kaninchen wurde in Lokalanästhesie (0,25‰ Nupercain) von einem hinteren Längsschnitt aus extraperitoneal (5mal) oder von einem vorderen Medianschnitt aus transperitoneal (6mal) der linke Nierenstiel aufgesucht und die Reizelektrode, eine chlorierte Silberelektrode, angelegt. Daraufhin wurden 0,5 cm^3

½%iges Indigocarmin pro Kilogramm in die Ohrvene injiziert. Nach Eintritt der Blauausscheidung, im Durchschnitt 2—2½ min nach der Injektion, wurde mit der faradischen Reizung begonnen.

Nach 30 sec langer Reizung (faradischer Strom 50—80 Hz, 6 V) sahen wir mit Beginn der Stromeinwirkung im Durchschnitt für 15 bis 20 sec eine Zunahme der Tropfenfolge bis auf das Doppelte des Ausgangswertes. In den folgenden 20—30 sec trat eine Abnahme unter deutlicher Abschwächung der Blaufärbung ein. Bei Verwendung von Strömen mit einer Frequenz von 100 Hz und 10 V hörte die Urinabscheidung im allgemeinen nach 1½—2 min vollständig auf. In allen auf diese Weise angestellten Versuchen setzten aber Urinproduktion und Farbstoffausscheidung nach spätestens 20 min wieder ein. — Die Reizungen konnten in derselben Sitzung 3—4mal stets mit dem gleichen Effekt wiederholt werden. Nach Abschluß der Versuche zeigten die Tiere keine erfaßbaren Störungen der Nierentätigkeit.

Einen prinzipiell gleichartigen Einfluß auf die Harnproduktion erzielten wir durch faradische Reizung der Nn. ischiadici (9 Fälle), des Plexus solaris (5 Fälle) und des Rückenmarks in Höhe D 9—L 1 (5 Fälle). Die Nn. ischiadici wurden ebenfalls in Lokalanästhesie von 0,25% Nupercain von einem 2 cm langen Hautschnitt aus dargestellt, das Rückenmark durch Abtragen der entsprechenden Bögen freigelegt.

Es soll hier auf eine detaillierte Erörterung dieser Versuche verzichtet werden, weil sie ebensowenig wie die Faradisation der Nierenstielnerven zu einer nachhaltigen Funktionsstörung der Niere geführt haben.

Von großer Wichtigkeit scheinen uns aber folgende Beobachtungen: In 2 Fällen erlebten wir eine Anurie mit tödlichem Ausgang. Bei dem ersten Tier waren in gleicher Sitzung mehrmalige faradische Reizungen (80 Hz, 5 V) des Nierenstieles vorgenommen worden, von denen jede zu vorübergehendem Sistieren der Harnabsonderung bis zu 25 min maximal geführt hatte. Danach traten nacheinander, zuerst an den hinteren Extremitäten, dann am Stamm und an den vorderen Extremitäten tonisch-klonische Krämpfe auf. Damit setzte, obwohl keine elektrische Reizung mehr erfolgt war, der Harnfluß vollständig aus. Das Tier kam 6½ Std. nach diesem Ereignis im Status epilepticus ad exitum. Die Anurie bestand bis zum Schluß. — Im 2. Fall hatten wir durch faradische Reizung des Nierenstiels für 12 min eine doppelseitige Unterdrückung der Urinproduktion erzeugen können. Als wir in anderer Absicht 30 min später den Liquor durch Suboccipitalstich vollkommen abließen (Speransky[62]), traten generalisierte tonisch-klonische Krämpfe auf. Zu gleicher Zeit geriet das Tier in den Zustand der Harnlosigkeit, der bis zu dem nach 5 Std. eintretenden exitus anhielt.

Es ist uns also im Gegensatz zu den oben genannten Untersuchern mit Ausnahme dieser beiden Fälle nicht gelungen, durch elektrische

Reizungen am Nierenstiel, am Plexus solaris, an den Nn. ischiadici und am Rückenmark eine langanhaltende Störung der Nierentätigkeit zu erzeugen, die dem aus der Klinik bekannten Krankheitsbild der „reflektorischen Anurie" (Israel[1]) vergleichbar wäre. Wir schlossen deshalb eine 2. Versuchsreihe an, in der wir uns bemühten, die Nierenstörungen zu reproduzieren, die Bywaters im Zusammenhang mit dem „Crush-Syndrom" erneut beschrieben hat. In bezug auf die Methode unseres Vorgehens stützten wir uns auf die Angaben von Koslowski[63].

Wir benutzten 10 Meerschweinchen. Die Tiere wurden tief mit Äther narkotisiert und eine hintere Extremität mit einer starken Klemme vollkommen zerquetscht. Die Klemme blieb darauf 4 Std lang liegen, ebensolange wurde die Narkose unterhalten. Bei der Einleitung der Narkose sahen wir, wie das nach unseren oben dargelegten Befunden zu erwarten war, eine Herabminderung, in 2 Fällen eine vollkommene Unterdrückung des Urinstromes. Die Diurese und etwas später auch die Farbstoffabsonderung setzten aber bei allen Tieren im Verlauf von 70 min bis zu $3\frac{1}{2}$ Std spätestens wieder ein, also bei sämtlichen Tieren noch während der Narkose. 1 Tier kam am 4. Tag p. o. ad exitum, nachdem 1 Tag zuvor in Lokalanästhesie die gequetschte Extremität im Hüftgelenk exartikuliert worden war. 2 weitere gingen am 5. und 7. Tag an einer doppelseitigen Lobärpneumonie zugrunde. Die übrigen wurden am 10. Tag nach dem Eingriff getötet.

O'Shaugnessy u. Slome[64]; Simonart[65]; Leveuf[66] u. Dogliotti[67] konnten in ihren Versuchen zeigen, daß die Auslösung eines traumatischen Schocks durch verschiedene Formen der Anästhesie zu unterbinden ist. Wir selbst erklären uns das Ausbleiben jeglicher Schockerscheinungen und das Fehlen der erwarteten Nierenfunktionsstörungen in unseren Versuchen ebenfalls durch die Wirkung der Narkose. Daher haben wir die Versuchsbedingungen in einer weiteren Untersuchungsreihe so abgewandelt, daß sie etwa den Bedingungen entsprechen, unter denen beim Menschen das Crush-Syndrom zustande kommt:

18 unnarkotisierten Meerschweinchen wurde eine hintere Extremität zertrümmert, anschließend Indigocarmin in der oben angeführten Dosierung intramuskulär zugeführt. Sämtliche Tiere zeigten deutliche Schockerscheinungen. Dabei konnten wir ein verschiedenes Verhalten beobachten: Der größere Teil („Typ I"), 12 Tiere, saß nach dem Trauma unbeweglich in der Ecke des Käfigs oder verkroch sich unter den Zellstoff, um dort bewegungslos zu verharren. Der kleinere Teil („Typ II"), 6 Tiere, fiel durch die außerordentliche Unruhe und motorische Erregbarkeit auf. Die Tiere liefen ruhelos im Käfig umher, auf geringste Reize taktiler, akustischer oder algetischer Art rannten sie in einigen Fällen minutenlang unaufhörlich gegen die Käfigwand, indem sie sich dabei schwere Verletzungen zuzogen.

Aus dieser Versuchsreihe kamen 2 Tiere nach 6 bzw. 8 Std ad exitum. In beiden Fällen erfolgte bis zum Schluß keine Urin- und Farbstoffausscheidung. Bei 3 Tieren trat der Tod bis zur 12. Std nach dem Eingriff ein. Auch sie waren bis zum Ende anurisch. 1 Tier davon schied präterminal noch ½ cm^3 sanguinolenten Urin aus. 4 der zugrunde gegangenen Tiere gehörten dem II. Typ an, eins dem I. Unter den anderen 13 sahen wir im Anschluß an das Trauma ein vollkommenes Aufhören der Urinausscheidung für 8—12 Std. Der Harnfluß setzte aber wieder zu verschiedenen Zeiten danach ein, zunächst ohne Farbstoffbeimengung. Spätestens nach 29 Std (1 Tier) war die Urinabsonderung spontan erfolgt. Die überlebenden Tiere wurden

am 4. Tag getötet, da in unserem Fall lediglich die akuten, „reflektorischen" Störungen der Nierenfunktion interessierten, nicht dagegen andere durch das Trauma verursachte Spätschäden (Infektion usw.).

Wir sehen, daß die Zertrümmerung einer Extremität am unnarkotisierten Meerschweinchen das Versuchstier in einen Schockzustand versetzt. Zugleich mit den Schockerscheinungen verursacht der Insult mehr oder weniger schwere Funktionsstörungen der Nieren, eventuell Funktionslosigkeit. Die Schwere der Nierenstörungen ist nach unseren Beobachtungen nicht der Schwere des Traumas, das in allen Fällen von gleichem Ausmaß war, sondern dem Grade der Schockerscheinungen adäquat. Als stärksten Grad des Schocks sahen wir bei unseren Tieren den oben beschriebenen erethischen Zustand an („Typ II"). Es läßt sich vor dem Trauma nicht sagen, welche Bedingungen das eine oder das andere posttraumatische Bild nach sich ziehen werden. Jedenfalls fehlen uns am Tier Methoden, solche für den Schock prädisponierende Faktoren vorher zu erkennen. — Wenn die Zustände von Anurie, die wir hier erzeugt haben, mit denen identisch sind, die wir beim Menschen im „Crush", in der postoperativen Phase, nach unverträglichen Bluttransfusionen usw. sehen, so könnte man unseren Versuchsergebnissen entnehmen, daß diese schweren Nierenstörungen als Teilerscheinungen dem Schockbild angehören, so daß es nicht berechtigt erscheint, sie als Krankheitsbild sui generis herauszustellen.

Durch die Untersuchungen von O'Shaugnessy u. Slome[64]; Dogliotti[67]; Leveuf[66]; Simonart[65]; Lorber, Kabet, Welte[68]; Alipow; Coenen; Creyssel u. Suire[69] u. a. sind genügend Beweise geliefert worden, die für die „neurogene" Erzeugung des traumatischen Schocks sprechen. Aus dem oben erörterten Zusammenhang zwischen Schockbild und Anurie heraus haben wir im folgenden versucht, auch für die beschriebenen Nierenfunktionsstörungen unsere Annahme zu begründen, daß sie, wie der Schock selbst, die Auswirkungen eines Reflexmechanismus darstellen, der selbst naturgemäß ein reaktionsfähiges Nervensystem am Ort des Insultes voraussetzt.

Diese 4. Serie umfaßt Versuche an 7 Meerschweinchen, bei denen wir in erster Sitzung eine Denervierung einer hinteren Extremität vornahmen: Von einem dorsalen Zugang aus wurden der Plexus lumbosacralis paravertebral durchtrennt und außerdem N. ischiadicus, N. obturatorius und N. femoralis aufgesucht und aus jedem dieser Nerven ein etwa 1 cm langes Stück reseziert. Die Wundheilung verlief ungestört, und bei allen Tieren trat eine komplette Lähmung auf. Unter gleichen Verhältnissen wie in der 2. und 3. Serie fügten wir ihnen am 5. Tag nach dem ersten Eingriff eine schwere Kontusion an der hinteren, gelähmten Extremität mit multiplen Frakturen am Ober- und Unterschenkel zu und injizierten im Anschluß an den Eingriff ½% Indigocarmin intramuskulär, 0,5 cm³ pro 100 g Körpergewicht. „Schocksymptome", wie sie oben beschrieben wurden, sahen wir an keinem der Tiere. Wir glauben außerdem, daß sie nicht schwer in ihrem Allgemeinbefinden gestört sein konnten, was wir daraus entnehmen, daß ein Teil von ihnen schon

wenige Minuten nach dem Eingriff spontan Futter aufnahm oder die zertrümmerte Extremitäte beleckte bzw. abfraß. Bis zum 4. Tag p. o. ging 1 Tier zugrunde (Peritonitis, Magen-Darmatonie). Länger als 3 Std anhaltendes Aufhören des Harnstromes sahen wir nicht. In 2 Fällen erfolgten Urin- und Farbstoffausscheidung prompt, in 1 nach 10—20 min, in 2 bis zu 1½ Std und in 1 Fall nach 3 Std.

In gleicher Absicht, d. h. die Nervenfunktion in der beschädigten Extremität zu unterbrechen, haben wir bei 5 Meerschweinchen das Rückenmark in Höhe D 5 bis D 12 vollständig zerstört. 1 Tier verloren wir während des Eingriffes infolge einer Pleuraverletzung mit beidseitigem Lungenkollaps, den übrigen wurde am 4. Tag p. o. ein schweres Trauma an der hinteren Extremität zugefügt. Auch nach diesem Eingriff keine Schockeffekte. Aus den Blasenkathetern, die wir wegen der durch den 1. Eingriff hervorgerufenen Miktionsstörung schon am Tage nach der ersten Operation eingeführt hatten, tropfte in 2 Fällen sofort, in den restlichen spätestens nach 10—15 min Urin kontinuierlich ab. Die Abscheidung des in der üblichen Dosis von 0,5 cm³ pro 100 g im Anschluß an das Trauma zugeführten Indigocarmins war in allen Versuchen nach 30 min abgeschlossen.

Wir glauben, daß diese Untersuchungsbefunde ein Beleg dafür sind, daß die nach einem schweren Trauma sich entwickelnden Nierenfunktionsstörungen (Anurie) nur im Rahmen des traumatischen Schockbildes auftreten und eine unter anderen sich gleichzeitig einstellende Organfunktionsstörung darstellen. Wir können diese Form der Anurie unseres Erachtens als „reflektorisch" bezeichnen, weil der Erzeugungsmechanismus direkt mit der Tätigkeit des Nervensystems verknüpft ist: Durch Unterdrückung der Nervenfunktion (periphere Denervierung, Rückenmarksdurchtrennung, Narkose) gelingt es, die Anurie zu verhindern. Sind jedoch einmal die Bedingungen für den Reflexablauf geschaffen, so ist durch die gleichen Maßnahmen der Nervenunterbrechung der Ablauf nicht zu beeinflussen.

Da unter diesem Aspekt das Problem der „reflektorischen Anurie" ein Schockproblem wird, muß auch an die Möglichkeit gedacht werden, daß bei der Gewebsquetschung freiwerdende und in den Kreislauf gelangende Substanzen das eigentlich auslösende Agens darstellen, weil diese, auch für die Schockerzeugung von anderer Seite angenommen wird (Quénu[70]; Richet[71]; Duval, Cannon[72]; Bayliss, Habelmann[73]). Wir selbst haben aber durch Anlegen einer hämostatischen Schlinge oder durch Amputation der vollständig zerquetschten Extremität (je 5 Falle der 3. Serie) die hinterher eintretenden Schockphänomene und die Anurie nicht verhindern können, so daß in unserem Fall eine Noxinämie bzw. Toxinämie nicht von ausschlaggebender Bedeutung sein kann (siehe dazu Roome u. Wilson[74]; Dragstedt u. Mead[75]; Uffreduzzi[76]; Smith).

Ob auch jene Formen der Anurie, die wir u. a. nach Bluttransfusionen ungleicher Blutgruppen erleben, über den Reflexweg zustandekommen, versuchten wir folgendermaßen zu klären:

10 Kaninchen und 10 Meerschweinchen wurden 2mal innerhalb 1 Woche mit Hammel- bzw. Pferdeserum intraperitoneal geimpft. Nach 3 Wochen wurden den Kaninchen 0,5 cm³ pro Kilogramm des gleichen Serums in die Ohrvene, den Meerschweinchen 0,25 cm³ pro 100 g intrakardial zusammen mit Indigocarmin injiziert. Ohne Ausnahme gingen die auf diese Weise vorbehandelten Meerschweinchen im

Verlauf von wenigen Minuten im anaphylaktischen Schock zugrunde. Unter den Kaninchen kamen 3 innerhalb von 10 min im Schock ad exitum, die übrigen zeigten bis zu 40 min anhaltende tonisch-klonische Krämpfe, die aber allmählich in einen mehrstündigen tonischen Streckkrampf mit Opisthotonus übergingen. 1 Tier starb in diesem Zustand 4 Std nach der Injektion. 6 Tiere überstanden also und zeigten nach 24 Std keine sichtbaren Erregungserscheinungen mehr. Nach der Serum-Injektion kam es in allen Fällen zur Harnlosigkeit, die in den Exitusfällen bis zum Tode anhielt. Bei den übrigen Tieren bestand ebenfalls gleich nach der Serumzufuhr eine Anurie, die aber $4\frac{1}{2}$—8 Std nach Aufhören der letzten feststellbaren Krampferscheinungen spontan zur Lösung kam. Kurz nach Einsetzen des Harnflusses erfolgte in den meisten Fällen auch die Farbstoffausscheidung.

An einer gleichgroßen Zahl Kaninchen und Meerschweinchen hatten wir vorher diese eben beschriebenen Experimente angestellt, nur mit dem Unterschied, daß die Tiere vor der 3. Serum-Injektion in tiefe Äthernarkose versetzt wurden. Es war uns unter diesen Umständen nicht möglich, die ohne Narkose mit Sicherheit auftretenden Schockzustände hervorzurufen. Die Urinproduktion hörte zwar in einigen Fällen während der Dauer der Narkose (20 min) vollständig auf, und im allgemeinen kam es vorübergehend zur Verminderung des Harnminutenvolumens, längerdauernde Funktionsstörungen der Nieren ließen sich jedoch nicht nachweisen. — Fassen wir die Tatsachen der letzten Versuchsreihe zusammen, so besagen sie, daß man imstande ist, durch parenterale, intravasale Zufuhr von Fremdserum am vorbehandelten Tier anhaltend schwere Nierenfunktionsstörungen (Anurie) zu erzeugen, jedoch nur in jenen Fällen, in denen die Serum-Injektion die Allgemeinerscheinungen eines anaphylaktischen Schocks auslöst. Diese lassen sich durch tiefe Narkose verhindern und damit auch die Nierenstörungen. (Die kurzdauernden Diureseeinschränkungen, die wir in den hier mitgeteilten Fällen sahen, möchten wir auf die Narkose selbst zurückführen, siehe oben.)

Unsere Beobachtungen legen die Annahme einer direkten Teilnahme des Zentralnervensystems auch an diesen über den Blutweg ausgelösten Schockzuständen nahe. Durch Ausschaltung der nervösen Funktion mit Hilfe der Narkose sind wir dementsprechend imstande, den Wirkungsmechanismus zu unterbrechen. Um diese Vorstellung weiter zu stützen, haben wir in einer letzten Serie folgende Versuche angestellt:

5 Kaninchen und 8 Meerschweinchen wurden mit Hammelserum vorbehandelt, 18 Tage danach decerebriert unter Mitentfernung des Thalamus. Am 4. Tag p. o. haben wir den Kaninchen (4 Stück) 1 cm^3 Hammelserum intravenös, den Meerschweinchen (5 Stück) 0,25 cm^3 pro 100 g intrakardial appliziert. Bei den Kaninchen löste die Serum-Injektion keinen Serumschock aus. Bei 1 Meerschweinchen kam es zu kurzanhaltenden klonischen Extremitätenkrämpfen, jedoch zur Anurie in keinem Fall. Alle Versuchstiere lebten bis zum 10. Tag nach der Operation. Abgesehen von den Einwirkungen, die der operative Eingriff auf die meisten Tiere ausgeübt hat (Polyurie, Hyposthenurie), sahen wir durch die Serum-Injektion keinen Einfluß auf die Diurese. Niemals kam es zur Anurie.

Diskussion.

Nach allgemeiner Ansicht umschließt die „reflektorische Anurie" ein Krankheitsbild, das durch eine Reihe meist örtlicher, einseitiger Einwirkungen am harnbildenden bzw. ableitenden System hervor-

gerufen werden kann. — Diese Auffassung war bisher bei der experimentellen Bearbeitung dieses Krankheitsgeschehens bestimmend für die Wahl der Methodik: Man versuchte lokalisierte mechanische, chemische oder elektrische Reizungen, um die Reflexanurie zu reproduzieren.

Wir haben das ebenfalls getan und, wie die 2. Versuchsserie zeigt, hatte das tatsächlich im Augenblick der Reizung einen Einfluß auf die Harnproduktion zur Folge. Wir sind jedoch nicht ohne weiteres berechtigt, diese Form der Nierenfunktionsänderung mit dem Krankheitsbild der reflektorischen Anurie gleichzusetzen. Was wir durch die Faradisation erzeugt haben, scheint uns eine ganz elementare Organreaktion auf einen elektrischen Reiz hin zu sein, die mit gleicher Sicherheit auftritt, wie etwa die Kontraktion eines Muskels nach faradischer Reizung. Daß es sich um eine *normale* Reaktion auf einen Nervenreiz hin handelt, beweist außerdem die Tatsache, daß die Reaktion mit dem Aufhören der Ursache ebenfalls endigt. Mit der Lokalreizung gelang die Reproduktion einer „echten Anurie" also nicht.

In einem Fall führten wir in Abständen mehrere Male eine Faradisation des Nierenstiels durch. Jeder Einzelreiz bewirkte für wenige Minuten eine Unterdrückung der Diurese. In einem Intervall traten nun plötzlich ohne erkennbare Ursache generalisierte Krampferscheinungen auf, unter denen das Versuchstier ad exitum kam. Mit dem Einsetzen der Konvulsionen zugleich entstand eine Harnlosigkeit, die bis zum Tode anhielt. Das gleiche Ereignis sahen wir bei einem 2. Fall. Hier setzten aber die Krämpfe ein, nachdem der Liquor entzogen wurde.

In diesen beiden Fällen lag also zwischen Reiz und Reaktion eine ausgedehnte Zeitspanne. Die Ursache dieser Anurie sehen wir in einem nervalen Vorgang, der durch die Primärreizung induziert wurde: Das wiederholte, lokalisierte Nerventrauma (elektrische Reizung) stört die Beziehung der Nervenelemente untereinander. Es kommt zur Entwicklung eines „Prozesses" im Nervensystem, der schließlich seine Entäußerung in ganz komplexen Manifestationen (generalisierte Krämpfe, Organstörungen wie u. a. Nierenfunktionsstörungen) findet.

Nach Speransky[62] könnte es sich bei diesem „Prozeß" um eine Form der „neuralen Dystrophie" handeln, die „segmentär" beginnt, d. h. ihren Ausgang vom Orte der Primärreizung aus nimmt, dann jedoch über die Grenzen des Segmentes hinaus „kumulativ" vorwärtsschreitet. Es entsteht so schließlich das, was Ricker[77] als „geänderte Reizbarkeit" des Nervensystems bezeichnet. In diesem Zustand genügt irgendein Reiz als „Indicator" (Pawlow[79]), wie Liquorentziehung (Speransky), „funktionelle Belastung" (Ricker), der an sich keine bestimmten Wirkungen entfaltet, um in dieser Situation eine ganz bestimmte Situation auszulösen, die man als spezifisch ansehen kann, weil ihr Charakter der augenblicklichen Reizbarkeit des Nervensystems und damit der Eigenschaft des reagierenden Objektes entspricht.

Der erwähnte Prozeß kann von jedem Punkt des Nervensystems seinen Ausgang nehmen und ist unabhängig von der Reizqualität. Die Manifestationen aber sind „charakteristisch“ und finden in bestimmten „Standardformen“ (Speransky) ihren Ausdruck.

Durch Reizmaßnahmen verschiedener Qualität (mechanische, algetische, humorale) und an verschiedenen Orten (Extremität, endovenös, intrakardial) lassen sich, wie wir gezeigt haben, nachhaltige Nierenfunktionsstörungen in Form von Anurien erzeugen. Es liegt auf der Hand, daß diese Nierenstörungen weder eine spezifische Wirkung der ihrer Natur nach ganz unterschiedlichen Reizursachen sein konnten, noch irgendwelche direkten Beziehungen zum Orte der Reizeinwirkung hatten. In allen diesen Fällen bestanden die Nierenstörungen nicht isoliert, sie waren nicht einmal führend im Gesamtbild. Sie traten im Rahmen ganz komplexer Entäußerungen auf, die wir in dieser „Standardform“ (es waren allgemeine Schocksymptome), wenn auch mit quantitativen Abstufungen, in allen Fällen wiedertrafen.

In Narkose waren die Reaktionen nicht zu erzeugen, und das lenkte unser Augenmerk erneut auf die Rolle des Nervensystems. Durch den Insult werden die Beziehungen zum N.S. gestört, was dann eine „veränderte Reizbarkeitslage“ des gesamten N.S. schafft, die ihre Reflexion in vielfachen peripheren Reaktionen finden kann. Als einen solcher „reflektierten Prozesse“ sehen wir auch die Nierenstörung in Form der Anurie an.

Mit der hier entwickelten Vorstellung finden wir die Brücke zu jenen in der Klinik bekannten Anurien, die durch die verschiedenartigsten Ursachen ausgelöst werden. Auch für die humoral erzeugten Anurien (nach unverträglichen Bluttransfusionen, im anaphylaktischen Schock) liefern unsere Versuche ein Argument im Bezug auf ihre nervale Entstehung: Die Seruminjektion am sensibilisierten Tier ruft anaphylaktischen Schock und zugleich damit auch Anurie hervor, die beide durch Narkose oder Decerebration verhindert werden können.

Es scheint uns nach allem nicht berechtigt, unter den verschiedenen akuten Anurien *eine* gesondert herauszuheben und als „reflektorische Anurie“ zu bezeichnen. Sie stellt unseres Erachtens weder im Bezug auf ihren Entwicklungsmechanismus, noch auf ihre Ursachen einen Sonderfall dar. Für jeden Fall der akuten Anurien, die wir im Experiment reproduziert haben, läßt sich als wesentlichstes die primäre Beteiligung des N.S. nachweisen. Die Organstörung (Anurie) stellt den „reflektierten Prozeß“ dar.

Unsere Anschauung schließt nicht aus, daß die Reaktionsfähigkeit des Organismus und damit die Reizauswirkung andererseits durch hormonale Wirkungen bestimmend beeinflußt werden kann, wie das in Modellversuchen durch Tonutti[80] und durch Selye[81] in seinen Arbeiten über das Adaptationssyndrom gezeigt werden konnte.

Literatur.

[1] Israel: Klinik der Nierenkrankheiten. — [2] de Navaquez: J. of Path. **51**, 413 (1940). — [3] Foy, Altmann, Barnes and Kondi: Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Lond. **36**, 197 (1943). — [4] Goinard: zit. Exc. Med. Surg. **1951**, 3608. — [5] Oehlecker: Chirurg **1950**, 261. — [6] Schütz u. Braun: Chirurg **1951**, 468. — [7] Letterer u. Masshoff: Virchows Arch. **1949**: 56. — [8] Fahr, Th.: Verh. dtsch. Ges. Urol. **1926**. — [9] Fanconi: Schweiz. med. Wschr. **1950**, 757. — [10] Frankenthal: Virchows Arch. **1916**, 222. — Bruns' Beitr. **1918**, 572. — [11] Borst: Slg. klin. Vortr. **12**, 328 (1917). — [12] Bredauer: zit. nach Letterer u. Masshoff: Virchows Arch. **1949**, 56. — [13] Wackradt: zit. nach Letterer u. Masshoff: Virchows Arch. **1949**, 56. — [14] Minami: Virchows Arch. **1923**, 247. — [15] Bingold: Dtsch. Arch. klin. Med. **1934**, 233. — [16] Brass: Frankf. Z. Path. **1943**, 1944. — [17] Beall, Bywaters, Belsey and Miles: Brit. Med. J. **1941**, 432. — [18] Bywaters: Brit. Med. J. **1941**, 29. — Brit. med. Bull. **1945**, 107. — Clin. Sci. **1946**, 19. — Bywaters, Crooke and Morris: Lancet **1943**, 373. — Bywaters and Stead: Clin. Sci. **1945**, 195. — Bywaters and Dible: J. of Path. **1942**, 11. — [19] Lucké: Mil. Surgeon **1946**, 371. — [20] Trueta u. Mitarb.: Studies of the renal circulation. Oxford: Blackwell **1948**. — [21] Loustalot: Schweiz. med. Wschr. **1950**, 1045. — [22] Tracy: E.M.J. of Urol. **1950**, 63. — [23] Bourett, Fraisse et Bonnet: J. Méd. Lyon **1950**, 31. — [24] Simeone etc.: Surg. etc. **1950**, 300. — [25] Brunner: Helvet. chir. Acta **1949**, 318. — [26] Fischer, H., Fröhlicher u. Rossier: Schweiz. med. Wschr. **1947**, 826. — Fischer u. Rossier: Helvet. med. Acta **1947**, 212. — [27] Baker: Lancet **1937**, 1390. — [28] Schmidt, M. B.: Verh. dtsch. path. Ges. **1910**. — [29] Pfeiffer: Krkh.forschg **1**. — [30] Walker: Arch. Surg. **1947**, 177. — [31] Zinck: Path. Anatomie der Verbrennung. Jena: Fischer 1940. — [32] Bürger u. Grauhan: Z. exper. Med. **1922**, **1923** u. **1924**. — [33] Boeminghaus: Dtsch. Z. Chir. **1929**, 414. — [34] Geisthövel u. Kirchhoff: Die postoperative Anurie. Hildesheim 1950. — [35] Rubritius: Wien. klin. Wschr. **1925**. — [36] Casper: Ther. Gegenw. **1907**, 435. — Neue dtsch. Klin. **1** (1928). — [37] Haberer: Wien. klin. Wschr. **1925**; zit. nach Rubritius. — [38] Baetzner: Berl. klin. Wschr. **1912**. — [39] Ascoli: Vorles. über Urämie. Jena 1903. — [40] Averbeck, Meitner u. Schneider: Z. exper. Med. **1943**, 436. — [41] Kümmel: Münch. med. Wschr. **1900**. — Verh. dtsch. Ges. Urol. **1927**. — [42] Kielleuthner u. Schlagintweit: Z. Urol. **1925**; zit. nach Rubritius. — [43] Fahr u. Gmelin: Hdb. path. Anat. Bd. **6**. — Z. urol. Chir. **21**, 182. — [44] Pflaumer: Wien. med. Wschr. **1934**, 1930. — [45] Wulff: Über die sogenannte reflektorische Steinanurie. Eine klinisch-experimentelle Studie. Lund 1941. — [46] Götze: Pflügers Arch. **83**, 628. — [47] Ozawa: Z. urol. Chir. **1929**, 315. — [48] Ghiron: Berl. klin. Wschr. **1914**. — [49] Übelhör: Arch. klin. Chir. **187**, 389. — [50] Springorum: Z. urol. Chir. **44**, 279 (1938). — Klin. Wschr. **1939**, 811. — [51] Jungmann: Klin. Wschr. **1927**. — [52] Blatt: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **169**. — [53] Jungmann u. Meyer: Arch. exper. Med. **73**, 49. — Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **1913**. — [54] Hammesfahr: Z. Urol. **14**. — [55] Kitamura: Jap. J. of Dermat. **38**, 407; zit. nach Übelhör. — [56] Gömöri, Földi u. Szabó: Experentia **1948**, 278. — [57] Suermondt: zit. Zentralorg. Chir. **119**, 73 (1951). — [58] van Slyke: Ann. Int. Med. **1948**, 701. — [59] Goodwin, Sloan and Scott: J. of Urol. **1949**, 1010. — [60] Haines, Wilbier and Milliken: J. of Urol. **17** (1927). — [61] Pringle: zit. nach Moyer: Surg. etc. **1950**, 198. — [62] Speransky: Grundlagen d. Theorie d. Medizin. Berlin: Saenger 1950. — [63] Koslowski: Z. allg. Path. **1951**, 49. — Chirurg **1950**, 461. — [64] O'Shaugnessy and Slome: Brit. J. Surg. **1935**, 590. — [65] Simonart: Arch. internat. Pharmacodynamie **1930**, 269. — [66] Leveuf: J. de Chir. **1940**. — [67] Dogliotti: Chirurg **1942**, 641. — [68] Lorber, Kabet and Welte: Surg. etc. **1940**. — [69] Creyssel et Suire: Choc traumatique. Paris: Masson et Cie. 1949. — [70] Quénu: Rev. de Chir. **1919**. —

[71] Richet: Chirurg **1942**, 643; zit. nach Dogliotti. — [72] Cannon: Traumatic Shock. New York u. London 1923. — Ann. Surg. **1934**, 704. — [73] Habelmann: Noxine in: Experiment u. Klinik. Leipzig: Thieme 1948. — [74] Roome and Wilson: Surg. etc. **1948**, 487; zit. nach Phemister. — [75] Dragstedt: Amer. J. Physiol. **65**. — Dragstedt and Mead: J. Amer. Med. Assoc. **1937**. — [76] Uffreduzzi: zit. nach Dogliotti: Chirurg **1942**, 644. — [77] Ricker: Wissenschaftstheoretische Aufsätze für Ärzte. Leipzig 1936. — [78] Kalbfleisch: Verh. dtsch. path. Ges. **1937**. — [79] Pawlow, J. P.: Conditioned Reflexes. Oxford 1927. — [80] Tonutti: Klin. Wschr. **1949**, 569. — Dtsch. med. Wschr. **1951**, 1041. — [81] Selye: Endocrinology **1937**, 169. — J. Clin. Endocrinol. **1947**, 117. — Dtsch. med. Wschr. **1951**, 965, 1001.

Dr. med. Gerd Kuhlgatz, Rostock, Chirgurgische Universitäts-Klinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 173—183 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien
(Vorstand: Prof. Dr. F. v. Brücke).

Die neuromuskuläre Lähmung durch Polymethylen-bis-phosphoniumverbindungen.

Von
K. H. Ginzel, H. Klupp, O. Kraupp und G. Werner.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. Juli 1952.)

Die ersten pharmakologischen Untersuchungen von Phosphoniumverbindungen gehen auf Vulpian[19] und Lindemann[15] zurück, wobei für Tetra*äthyl*phosphonium eine muskel- und reflexlähmende Wirkung festgestellt wurde. Das Tetra*methyl*phosphonium besitzt neben der muskellähmenden auch nikotinartig erregende sowie muscarinartige Wirkungen[13]. In Hinblick auf den Vergleich mit den entsprechenden Ammoniumverbindungen fällt die geringere Wirksamkeit der Phosphoniumbasen auf[14]; dies gilt auch für Phosphocholin und dessen Acetylester[20].

Bei den aliphatischen Ammoniumverbindungen mit zwei quartären Stickstoffatomen (z. B. Methoniumverbindungen[2, 16], Bischolinester[3,7]) treten im Vergleich zu den einfachen Ammoniumverbindungen die nicotin- bzw. curareartigen Eigenschaften weitaus in den Vordergrund. Wir untersuchten nunmehr an einer Reihe von Polymethylen-bis-phosphoniumverbindungen, ob diese ein entsprechendes Verhalten aufweisen. Es standen uns sowohl Verbindungen verschiedener Kettenlänge als auch mit verschiedenen Substituenten an den Phosphoratomen zur Verfügung*:

	n = 4	5	6	10
$(C_6H_5)(CH_3)(CH_3)\overset{+}{P}-(CH_2)_n-\overset{+}{P}(C_6H_5)(CH_3)(CH_3)$	—	—	—	Q_{153}
$(C_6H_5)_3\overset{+}{P}-(CH_2)_n-\overset{+}{P}(C_6H_5)_3$	Q_{10}	Q_{11}	Q_{12}	Q_{13}
$(C_2H_5)_3\overset{+}{P}-(CH_2)_n-\overset{+}{P}(C_2H_5)_3$	Q_3	Q_6	Q_7	Q_8
$(CH_3)_3\overset{+}{P}-(CH_2)_n-\overset{+}{P}(CH_3)_3$	—	—	—	Q_{153}

Sämtliche Substanzen wurden als Bromide verwendet.

* Diese Substanzen wurden uns von der Fa. Dr. Karl Thomae, G.m.b.H., Biberach/Riss, zur pharmakologischen Untersuchung überlassen.

Methodik.

Die in diesen Versuchen verwendeten Methoden wurden bereits in früheren Arbeiten[6] ausführlich beschrieben. Die Bestimmung der neuromuskulär lähmenden Wirksamkeit erfolgte am isolierten Zwerchfell der Ratte[4]. An Katzen in Chloralosenarkose (80 mg/kg) wurde die indirekte Erregbarkeit des M. gastrocnemius bzw. quadriceps untersucht und die Spontanatmung nach der Methode von Gaddum[5] registriert; die Versuchslösungen wurden intravenös injiziert. Zur Bestimmung der Wirkungscharakteristik der Versuchskörper auf den Skeletmuskel bedienten wir uns der von uns beschriebenen Versuchsanordnung an der Taube[8]; zu demselben Zwecke untersuchten wir auch die Wirkung dieser Körper auf den isolierten M. rectus abdominis des Frosches. Um einen weiteren Anhaltspunkt für die Zuordnung der Substanzen zur Gruppe der curareartig bzw. nicotinartig[9] wirkenden Stoffe zu gewinnen, bestimmten wir die Änderung des Verletzungspotentials am M. ileofibularis bzw. sartorius des Frosches; die hierfür verwendete Versuchsanordnung ist in [10] angegeben. An Katzen in Chloralose- bzw. Dial- (50 mg/kg intraperitoneal) Narkose wurde ferner nach der Methode von Schweitzer u. Wright[18] der Patellarsehnenreflex (PSR) mittels eines automatisch betriebenen Reflexhammers alle 6 bzw. 12 sec ausgelöst; gleichzeitig wurde die indirekte Erregbarkeit des M. quadriceps der Gegenseite durch Reizung des N. femoralis mit supramaximalen Einzelimpulsen fortlaufend geprüft. In einigen Versuchen wurde ferner untersucht, ob der den PSR fördernde bzw. hemmende Effekt der Reizung bestimmter Punkte der formatio reticularis durch die Versuchskörper beeinflußt wird. Die Einzelheiten dieser Versuchsanordnung sind in [11, 12] beschrieben.

Zur Bestimmung der Wirkung der bis-Phosphoniumverbindungen auf die Cholinesterase des Pferdeserums verwendeten wir die Methode von Ammon[1]. Es wurden 0,2 cm³ Pferdeserum auf 2 cm³ Gesamtvolumen mit 0,024 m Bicarbonat-Lösung aufgefüllt, in der die Versuchskörper gelöst waren. Als Substrat verwendeten wir Acetylcholin, das nach Temperatur- und Gasausgleich (95% N_2, 5% CO_2) aus dem Seitentrog eingekippt wurde; seine Endkonzentration im Reaktionsgemisch betrug 60 mM/l.

Ergebnisse.

Die in der Formelübersicht angegebenen Versuchssubstanzen wurden zunächst am isolierten Zwerchfell-Phrenicuspräparat der Ratte auf ihre neuromuskulär lähmende Wirkung hin ausgetestet: dabei wurde ihre Wirksamkeit mit jener von Decamethonium (C 10) verglichen. Es ergab sich, daß die bis-Triäthyl-phosphoniumbasen Q 3, Q 6, Q 7 und Q 8 im Vergleich zueinander etwa gleich stark wirksam sind: in einer Konzentration von 1:6000 wird die Kontraktionshöhe des Zwerchfelles auf die Hälfte erniedrigt. Somit ist die Wirksamkeit dieser Verbindungen unabhängig von der Länge der Polymethylenkette (für n = 4, 5, 6 und 10) und etwa 10mal geringer als jene von C 10. Die entsprechenden bis-Triphenylverbindungen (Q 10, Q 11, Q 12 und Q 13) lähmen durchwegs stärker: von den untersuchten Verbindungen dieser Reihe ist Q 12 mit n = 6 am wirksamsten; eine 50%ige Lähmung wird bei einer Konzentration von 1:60000 erreicht, womit diese Substanz dem C 10 wirkungsgleich ist. Q 10 und Q 11 sind halb so stark, Q 13 dagegen nur ein Viertel so stark wirksam wie Q 12. An den meisten Muskelpräparaten

konnten wir feststellen, daß die Erholung selbst nach nur geringgradig lähmenden Dosen der Phosphoniumverbindungen auch bei langem Warten und wiederholtem Wechsel der Badeflüssigkeit unvollständig war.

Die am Zwerchfellpräparat beobachtete Lähmung beruht nicht auf einer Unterbrechung der Erregungsleitung im Nerven, wie wir uns durch Versuche in der Anordnung nach WILBRANDT[22] überzeugen konnten. Die Substanzen wurden dabei in Konzentrationen bis zu 10^{-2} (bzw. bei geringerer Löslichkeit in der maximal möglichen Konzentration) verwendet.

Am isolierten Musc. rectus abdominis des Frosches zeigen sowohl die bis-Triäthyl- als auch die bis-Triphenylphosphoniumbasen einen Antagonismus gegenüber der Azetylcholin (ACH)-Kontraktur. Es handelt sich dabei um eine curareartige Wirkung, da die durch K-Ionen ausgelöste Kontraktur nicht beeinflußt wird und die kontrakturantagonistische Wirkung gegenüber ACH kompetitiver Natur ist. Ähnlich wie am Rattenzwerchfell sind auch an diesem Präparat die Äthylverbindungen schwächer wirksam, als die Phenylverbindungen: während die Äthylphosphoniumbasen (Q 3—Q 8) nur etwa $^1/_{20}$ der Wirksamkeit von d-Tubocurarin (d-TC) aufweisen, sind die Phenylverbindungen (Q 10-Q 13) wesentlich stärker wirksam als d-TC; dabei steigt hier die kontrakturantagonistische Wirkung mit zunehmender Länge der Polymethylenkette an. Sie übertrifft bei der Decamethylenverbindung Q 13 die Anti-Azetylcholinwirkung von d-TC um etwa das Hundertfache. Besonders bei Q 13 war auffallend, daß die anfängliche Empfindlichkeit des Musc. rectus für ACH selbst bei wiederholtem Wechsel der RINGER-Lösung erst im Verlaufe von Stunden wiederkehrte. Auch die bis-Trimethylverbindung Q 152 sowie deren bis-Monophenylderivat Q 153 lähmen den Musc. rectus abdominis nach der Art von d-TC, allerdings erst in etwa 50mal höheren Konzentrationen.

Ebenso wie am Musc. rectus abdominis wirken die Triäthyl- und die Triphenylphosphoniumverbindungen auch an der Taube wie d-TC; sie lähmen die indirekte Erregbarkeit ohne die direkte zu beeinflussen. Die einzelnen Versuchstiere zeigen starke Empfindlichkeitsunterschiede gegenüber den Versuchskörpern. Die Dosen, die bei indirekter Reizung des Musc. gastrocnemius zur Herabsetzung der Kontraktionshöhe auf die Hälfte des Ausgangswertes erforderlich sind, liegen für alle Substanzen zwischen 20 und 40 μg/100 g Tiergewicht; die Dauer einer solchen Lähmung beträgt 10—20 min. Nur Q 13 lähmt erst in Dosen von 60—120 μg/100 g in dem gleichen Ausmaße. Auch gegenüber d-TC, dessen gleich wirksame Dosen in demselben Bereiche liegen, bestehen starke Unterschiede der Empfindlichkeit der Versuchstiere[8]. Die Ähnlichkeit der genannten Verbindungen zu d-TC erstreckt sich mit Ausnahme von Q 13 ferner auch auf den kompetitiven Antagonismus gegenüber kontrakturauslösenden

Substanzen (Abb. 1). In der Mehrzahl der Versuche beobachteten wir, daß der Kontrakturantagonismus die Herabsetzung der indirekten Erregbarkeit etwas überdauerte. Die bis-Triphenylphosphoniumverbindung Q 13 jedoch zeigte in bezug auf kontrakturauslösende Testsubstanzen ein ganz außergewöhnliches Verhalten (Abb. 2): wird nach Abklingen der Herabsetzung der indirekten Erregbarkeit durch Q 13 eine im Vorversuch maximal kontrakturwirksame Dosis von C 10 injiziert, so unterbleibt zwar die Kontraktur, darüber hinaus tritt

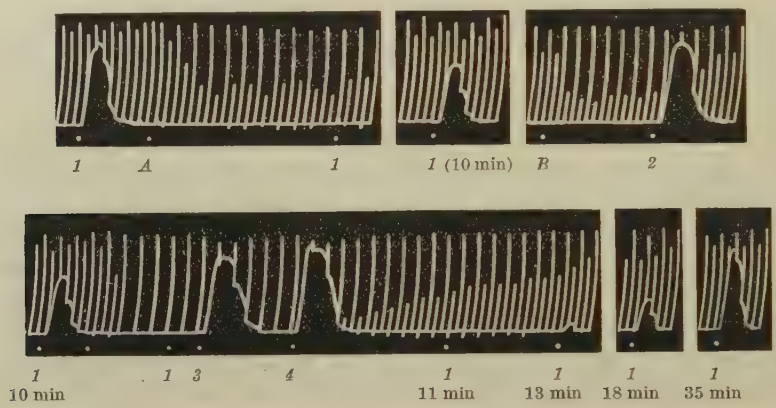


Abb. 1. Taube, 320 g; in Äthernarkose decerebriert, künstlich beatmet. Alternierend direkte und indirekte Reizung des M. gastrocnemius mit supramaximalen Einzelreizen. Intervall zwischen je 2 aufeinanderfolgenden Reizen: 9 sec. Alle Dosen sind pro 100 g Tiergewicht angegeben; die Injektionen erfolgten in die Flügelvene. Bei *A*: 100 μg Q 7, bei *B*: 70 μg Q 8, bei *C*: 200 μg Q 8. Bei *1*: 7 μg, bei *2*: 30 μg, bei *3*: 70 μg und bei *4*: 50 μg Adipinbischolin.
Die Zeitangaben beziehen sich auf das Intervall seit der jeweils vorangegangenen Injektion der entsprechenden „Q"-Substanzen.

aber eine curareartige Lähmung in Erscheinung. Der zeitliche Verlauf dieser Lähmung entspricht etwa der Dauer der Kontraktur, die durch dieselbe Dosis von C 10 am normal empfindlichen Muskel hervorgerufen wird (s. Abb. 2A und B). Die beschriebene Änderung des Wirkungsbildes von C 10 auf den Taubenmuskel ist während eines Zeitraumes von etwa 30 min nach der Injektion von Q 13 (100—150 μg/100 g) nachzuweisen. In diesem Stadium kann durch Erhöhung der Dosis von C 10 wohl eine Kontraktur — entsprechend dem auch hier nachweisbaren kompetitiven Charakter des Kontrakturantagonismus — hervorgerufen werden, doch ist sie von einer stärkeren Lähmung der indirekten Erregbarkeit gefolgt (Abb. 2C). Ein ähnliches Kurvenbild, in dem sowohl Kontraktur als auch Lähmung der indirekten Erregbarkeit enthalten ist, ist im weiteren Verlaufe des Rückganges der Wirkung von Q 13 zu beobachten; dabei schwindet die Herabsetzung der indirekten Erregbarkeit durch C 10 in dem Maße, in dem seine Kontrakturwirksamkeit zunimmt, bis nach etwa 120 min (Abb. 2E) der Muskel seine anfäng-

liche Empfindlichkeit für die Kontrakturwirkung von C 10 wieder erlangt. Wir untersuchten ferner, ob auch die Wirksamkeit anderer Kontrakturstoffe vom Typus des C 10 durch Q 13 in ähnlicher Weise abgeändert wird. Abb. 3 zeigt einen derartigen Versuch, in dem zunächst C 10 und Adipin-bis-Cholin (s. 8) in Dosen injiziert wurden, die in bezug auf die Höhe der Kontraktur etwa gleich wirksam waren. Unter dem Einfluß von Q 13 ist die Wirkung von C 10 in der oben beschriebenen Art für mehr als 30 min verändert. Dieselbe Umkehr der Wirkung ist auch für Adipin-bis-Cholin nachzuweisen; die so in Erscheinung tretende Lähmung der indirekten Erregbarkeit durch Adipin-bis-Cholin ist ebenso flüchtig wie die durch diese Substanz am normalen Muskel ausgelöste Kontraktur. Zum Unterschied von C 10 reagiert der Muskel gegenüber Adipin-bis-Cholin bereits zu einem Zeitpunkt wieder mit Kontraktur, zu dem C 10 noch fast ausschließlich Lähmung der indirekten Erregbarkeit bewirkt. Anders liegen die Verhältnisse bei ACH: es besteht hier lediglich ein Antagonismus von Q 13 gegenüber der ACH-Kontraktur; eine Umwandlung der Kontrakturwirkung in eine Lähmung der indirekten Erregbarkeit konnten wir für ACH auch bei größeren Dosen nicht beobachten. Wir fanden auch, daß die Kontrakturwirkung von ACH durch Q 13 in weitaus geringerem Maße vermindert wird, als die von Adipin-bis-Cholin bzw. C 10. Die bisher besprochenen Versuche dieser Art zeigen somit, daß Q 13 gegenüber verschiedenen Kontrakturstoffen (ACH, Adipin-bis-Cholin, C 10) einen verschieden starken Antagonismus von unterschiedlicher Dauer aufweist. Auch die Kontraktur durch das bis-Monoäthylderivat von C 10 (= Substanz M 129* in [10]) wird nach Q 13 in

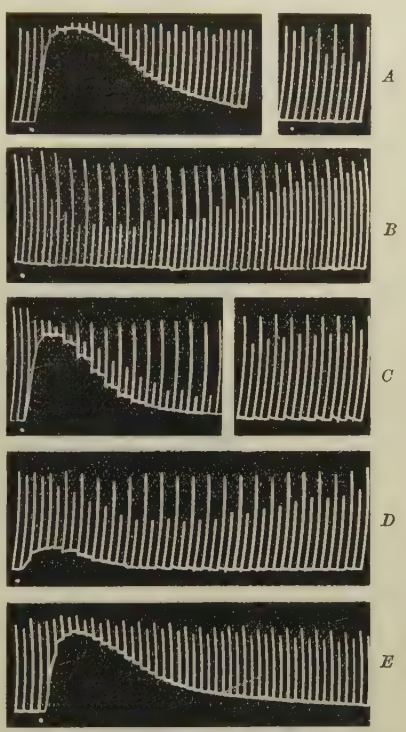


Abb. 2. Taube, 300 g; Versuchsanordnung wie in Abb. 1. In *A*: bei der 1. Marke 10 μg C 10; 10 min später (2. Marke) 120 μg Q 13. In *B*: 10 μg C 10, 15 min nach der Injektion von Q 13. In *C*: 20 μg C 10 (45 min nach Q 13); rechtes Kurvenstück 5 min später. In *D*: 10 μg C 10 (60 min nach Q 13). In *E*: 10 μg C 10 (120 min nach Q 13).

* Diese Substanz wurde uns ebenso wie M 127 und Adipin-bis-cholin von den Österreichischen Stickstoffwerken in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt.

eine Lähmung der indirekten Erregbarkeit umgewandelt; dies ist selbst noch zu einem Zeitpunkt nach Injektion von Q 13 der Fall, in dem Adipin-bis-Cholin seine anfängliche Kontrakturwirksamkeit fast wieder erreicht hat.

Messungen des Ruhepotentiales am isolierten Froschmuskel (M. ileofibularis) erwiesen lediglich die curareartige Eigenschaft von Q 13; im untersuchten Konzentrationsbereich (bis zu 10 μg/cm^3) wurde das Ruhepotential selbst nicht verändert, hingegen die depolarisierende Wirkung von nachträglich zugesetztem C 10 oder Adipin-bis-cholin verhindert.

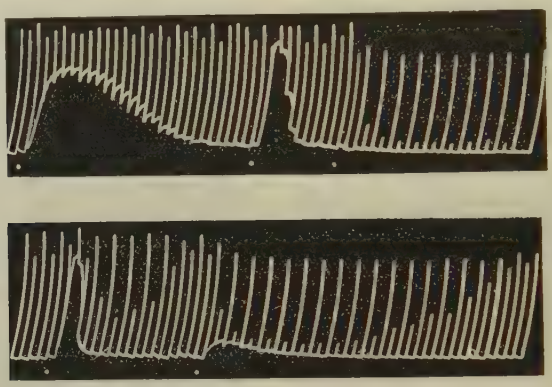


Abb. 3. Taube, 280 g; Versuchsanordnung wie in Abb. 1. Bei *1*: 8 μg C 10; bei *2*: 8 μg Adipin-bis-cholin; bei *3*: 100 μg Q 13. Die indirekte Erregbarkeit ist etwa 15 min nach der Injektion von Q 13 wiederhergestellt.
Die angegebenen Zeiten entsprechen dem Intervall seit der Injektion von Q 13.

Die dem C 10 entsprechende bis-Phosphoniumverbindung (Q 152) wirkt an der Taube ebenso wie C 10 selbst kontrakturauslösend; die Relation der Wirksamkeit beträgt etwa 1:10, d. h. 10 μg C 10 bewirken eine Kontraktur derselben Intensität und des gleichen zeitlichen Verlaufes wie 100 μg Q 152. Ersatz von je einer Methylgruppe an den Phosphoratomen durch Phenylradikale führt zur Verbindung Q 153, die keine Kontraktur mehr verursacht, sondern lediglich die indirekte Erregbarkeit herabsetzt: Dosen von 150 μg/100 g lähmen für die Dauer von etwa 3 min.

Q 152 wirkt auch an der Katze wesentlich schwächer neuromuskulär lähmend als C 10: es werden etwa 5fach höhere Dosen benötigt, um bezüglich Intensität und Zeitdauer gleichartige Wirkungen zu erzielen. Während des Eintrittes bzw. Abklingens der Lähmung werden ebenso wie bei C 10 starke fasciculäre Zuckungen beobachtet. Eine den Musc. quadriceps gegenüber Einzelreizen eben erst geringfügig lähmende Dosis von Q 152 bewirkt bereits eine ausgeprägte Herabsetzung des PSR. Q 152 verhält sich in dieser Hinsicht ebenso wie

C 10. Auffallend ist die bei Q 152 gelegentlich zu beobachtende deutliche Verminderung der Ausgangsspannung des Muskels (Abb. 4). Eine Dosis von 50 μg, die bereits eine schwache Muskellähmung verursacht, hat keine Wirkung auf die durch Reizung der Formatio reticularis bewirkte Hemmung des PSR.

Die bis-Triäthylphosphoniumverbindung der gleichen Kettenlänge, Q 8, lähmt an der Katze in Dosen von 1—5 mg (intravenös) die indirekte Erregbarkeit um 20—90%. Die Wirkung ist außerordentlich

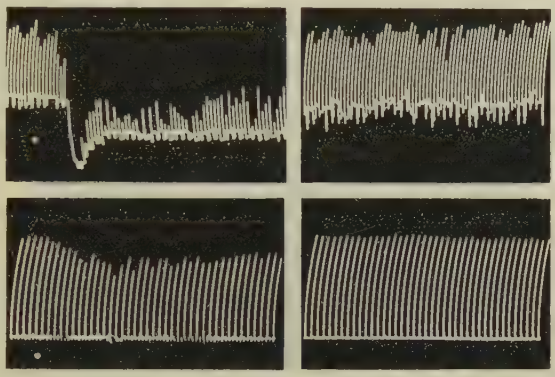


Abb. 4. Katze, 3,2 kg. Narkose: 50 mg/kg Dial intraperitoneal. Obere Kurve: PSR, alle 6 sec. Untere Kurve: Kontraktionen des M. quadriceps bei supramaximaler Einzelreizung des N. femoral. (alle 9 sec). Bei *1*: 50 μg/kg Q 152 intravenös. Rechter Kurvenabschnitt: 20 min später.

flüchtig: eine 80%ige Lähmung ist in 2 bis 3 min wieder abgeklungen. Bei wiederholter Verabreichung ändert sich weder die Empfindlichkeit des Muskels, noch die Dauer der Wirkung. Wir fanden, daß die Wirksamkeit von depolarisierenden Substanzen (z. B. C 10) an der Katze nach Q 8 vermindert ist. Dieses Verhalten ist für Curare-ähnliche Substanzen charakteristisch und steht in Analogie zum Kontrakturantagonismus von Q 8 gegenüber C 10 u. ä. Substanzen an der Taube. Zum Unterschied von Curare allerdings ist die Lähmung durch Q 8 weder durch Eserin, noch durch Decamethonium antagonistisch zu beeinflussen.

Auch die tri-Phenylphosphoniumverbindung mit derselben Anzahl von Methylengruppen, (Q 13), die an der Taube die indirekte Erregbarkeit in ähnlicher Weise wie d-TC lähmt, wird an der Katze weder durch Eserin noch durch C 10 antagonisiert. Die Wirkungsweise von Q 13 ist darüber hinaus von jener des d-TC noch dadurch unterschieden, daß die Lähmung durch C 10 nach Q 13 verstärkt in Erscheinung tritt. Q 13 lähmt ebenso wie Q 8 den PSR und den durch supramaximale Einzelimpulse indirekt gereizten Vergleichsmuskel in gleichem Ausmaße (Abb. 5).

Der Effekt der Reizung der formatio reticularis auf den PSR wird durch Q 13 selbst in einem Stadium der teilweisen neuromuskulären Lähmung nicht beeinflußt (s. Abb. 5). Das gleiche gilt auch für Q 152.

Sämtliche der hier angeführten bis-Phosphoniumverbindungen hemmen die Cholinesterase des Pferdeserums; dabei erweist sich Q 13 am wirksamsten, da es in einer Konzentration von $1{,}2 \cdot 10^{-7}$ Mol/l die Aktivität des Pferdeserums um 50% herabsetzt. Im Vergleich dazu ist Eserin etwa 100mal stärker wirksam. Die übrigen bis-Phos-

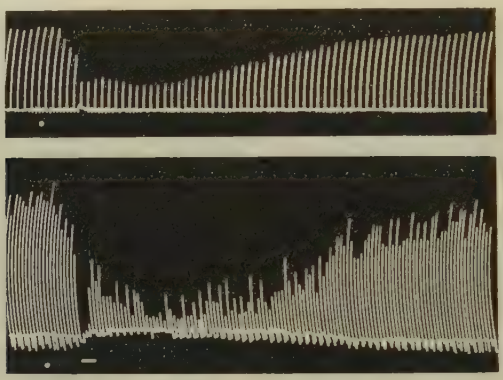


Abb. 5. Katze, 2,7 kg. Narkose wie in Abb. 4. Obere Kurve: Kontraktionen des M. quadriceps bei supramaximaler Einzelreizung des N. femoral. Untere Kurve: PSR. Bei *1*: 1 mg/kg Q 13 intravenös; der waagerechte Strich markiert die Dauer einer Reizperiode (Reizung einer hemmenden Region der Formatio reticularis).

phoniumverbindungen wirken wesentlich schwächer als Q 13. Es ergab sich keinerlei Anhaltspunkt dafür daß die Cholinesterasehemmwirkung der untersuchten Substanzen in den verwendeten Dosen im Tierversuch in Erscheinung tritt.

Diskussion.

Der Ersatz des Stickstoffatoms von bis-quartären aliphatischen Ammoniumverbindungen durch Phosphor führt zu Substanzen, die ebenfalls ausgeprägte neuromuskuläre Wirkungen besitzen. Die starke Wirkungsabnahme beim Übergang von Monoammonium- zu Monophosphoniumverbindungen ist interessanterweise bei den *bis*-Oniumverbindungen durchaus nicht regelmäßig anzutreffen: So z. B. zeigt Q 8 etwa dieselbe Wirksamkeit in bezug auf die Intensität der Lähmung wie die entsprechende bis-Triäthylammoniumverbindung (= Versuchssubstanz M 127, s.[10]); Q 13 ist am Froschrectus sogar 100mal wirksamer als d-TC (eine Vergleichssubstanz aus der C 10-Reihe steht hier nicht zur Verfügung). Andererseits verliert C 10 an Wirkung, wenn dessen Stickstoffatome durch Phosphor ausgetauscht werden (s. Q 152).

Auch der Übergang vom bis-Triäthylderivat des Hexamethoniums[21] zur entsprechenden bis-Phosphoniumverbindung geht mit einem Wirkungsverlust einher.

Die Versuche an der Taube zur Klassifizierung der Wirkungsweise der bis-Phosphoniumverbindungen zeigten zunächst, daß die dem C 10 entsprechende Substanz Q 152 ebenso wie dieses Kontraktur bewirkt. Äthyl- und Phenylsubstitution an den Phosphoratomen führt dagegen zum Verlust der Kontrakturwirkung und gleichzeitig zum Auftreten einer Lähmung der indirekten Erregbarkeit. Dasselbe gilt, wie von uns bereits früher beschrieben wurde[10], auch für die Äthylsubstitutionsprodukte von C 10. Das Beispiel von Q 153 zeigt, daß schon die Einführung je einer Phenylgruppe an die Phosphoratome der Verbindung Q 152 genügt, um die beschriebene Änderung der Wirkungsweise herbeizuführen. Randall hat mitgeteilt, daß Nitrobenzylsubstitution an den beiden Stickstoffatomen von bis-quartären C 10-artig wirkenden Ammoniumverbindungen diesen Substanzen Characteristica von d-TC verleiht[17]. Offenbar ist also der Wirkungstypus neuromuskulär lähmender bis-Oniumbasen durch die Substituenten an den quartären Gruppen bestimmt.

In unseren Untersuchungen[10] haben wir darauf hingewiesen, daß ein und dieselbe Substanz bei *einer* Tierspezies C 10-artige, bei einer anderen hingegen d-TC-artige Wirkungen besitzen kann. Q 152 stellt insofern ein weiteres Beispiel für Stoffe dieser Art dar, als es sich am Taubenmuskel wie C 10 verhält, am Froschrectus jedoch lediglich kontrakturantagonistisch wirkt.

Die Ähnlichkeit der bis-Triäthyl- und bis-Triphenylphosphoniumverbindungen zu d-TC erstreckt sich auf den Kontrakturantagonismus an Tauben- und Froschmuskeln, auf die Lähmung der indirekten Erregbarkeit sowie auf den Antagonismus gegenüber der lähmenden Wirkung von C 10-artigen Substanzen an der Katze (Q 13 bildet in dem zuletzt genannten Punkt eine Ausnahme). Einen Unterschied zu d-TC finden wir allerdings darin, daß weder Cholinesterasehemmkörper noch C 10 in entsprechenden Dosen die Lähmung durch diese Stoffe aufzuheben vermögen. Dasselbe trifft auch für die bis-Triäthylverbindungen von C 10 und Succinylbischolin zu[10]. Es gibt also offenbar peripher muskellähmende Substanzen, die nur einige, aber nicht alle der für d-TC charakteristischen Eigenschaften aufweisen.

Die bis-Triphenylphosphoniumverbindung Q 13 wirkt an der Taube zunächst ähnlich wie d-TC, indem sie die indirekte Erregbarkeit des Musc. gastrocnemius herabsetzt und einen Antagonismus gegenüber kontrakturauslösenden Substanzen (Azetylcholin, C 10 u. ä.) entfaltet. Darüber hinaus besitzt Q 13 eine völlig neuartige Wirkung insofern, als es die Reaktionsweise des Muskels gegenüber bestimmten Kontrakturstoffen über längere Zeit hin verändert: diese bewirken nämlich

dann an Stelle der Kontraktur eine Lähmung der indirekten Erregbarkeit. Unter den verwendeten Substanzen vom Typus des C 10 tritt die beschriebene Veränderung der Wirkungsweise bei C 10 selbst und bei dessen bis-Monoäthylderivat am ausgeprägtesten auf; das Beispiel des Azetylcholins dagegen zeigt, daß durchaus nicht jede Kontraktursubstanz nach Q 13 zu einer curareähnlichen Lähmung führt. In diesem Zusammenhang ist noch bemerkenswert, daß die Wirkung an sich nur schwach lähmender Dosen von C 10 bei der Katze durch Q 13 deutlich verstärkt werden. Auch dies ist in Hinblick auf den bekannten Antagonismus curareähnlicher Substanzen gegenüber C 10 ungewöhnlich.

Die ursprünglichen Beobachtungen von Lindemann[15] bezüglich der zentral reflexhemmenden Wirkung einer mono-Phosphoniumverbindung veranlaßte uns, auch einige der uns zur Verfügung stehenden bis-Phosphoniumverbindungen auf zentrale Wirkungen hin zu untersuchen. Dabei war keine Wirkung auf die Förderung bzw. Hemmung des PSR durch Reizung der Formatio reticularis festzustellen. Das tonus- und reflexregulierende System von Hirnstamm und Rückenmark wird demnach durch die bis-Phosphoniumverbindungen nicht beeinflußt. Die Abnahme des Ruhetonus durch Q 152, die wir gelegentlich beobachteten, beruht offenbar nur auf einer neuromusculären Wirkung.

Zusammenfassung.

Die hier untersuchten bis-Triäthyl- und bis-Triphenylphosphoniumbasen wirken an den meisten Testobjekten und auch am Ganztier schwächer lähmend, als d-Tubocurarin; nur am M.rectus abdominis des Frosches übertreffen einige dieser Substanzen die kontrakturantagonistische Wirkung von d-TC. Obwohl diese Verbindungen einige der Charakteristika der Curarewirkung aufweisen (Kontrakturantagonismus, Lähmung der indirekten Erregbarkeit), kann ihre Wirkung weder durch C 10 noch durch Hemmkörper der Cholinesterase aufgehoben werden.

Die Decamethylen-bis-Triphenylphosphoniumverbindung (Q 13) bewirkt außerdem eine Veränderung der Reaktionsweise des Taubenmuskel derart, daß einige Kontrakturstoffe vorübergehend an Stelle der Kontraktur eine Lähmung der indirekten Erregbarkeit bewirken.

Die dem C 10 entsprechende bis-Trimethylphosphoniumverbindung (Q 152) wirkt an der Taube ebenso wie C 10 kontrakturauslösend, am M. rectus abdom. des Frosches jedoch kontrakturantagonistisch.

Literatur.

[1] Ammon, R.: Pflügers Arch. **233**, 486 (1933). — [2] Barlow, R. B., und H. R. Ing: Brit. J. Pharmacol. **3**, 298 (1948). — [3] Bovet, D., F. Bovet-Nitti, S. Guarino, V. Longo e M. Marotta: Rendiconti Istituto Superiore di Sanità **12**, 106

(1949). — [4] Bülbring, E.: Brit. J. Pharmacol. **1**, 38 (1946). — Gaddum, J. H.: J. of Physiol. **99**, 257 (1941). [6] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Scientia Pharmazeut. **19**, 164 (1951). — [7] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Arch. internat. Pharmacodynamie **87**, 79 (1951). — [8] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 453 (1951). — [9] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Experentia **7**, 387 (1951). — [10] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 103 (1952). — [11] Ginzel, K. H., H. Klupp, H. Stormann u. G. Werner: Experientia **1952** (im Druck). — [12] Ginzel, K. H., H. Klupp, H. Stormann u. G. Werner: Arzneimittelforschg **2**, 271 (1952). — [13] Hunt, R., and R. R. Renshaw: J. of Pharmacol. **25**, 354 (1925). — [14] Ing, H. R.: Physiologic. Rev. **16**, 527 (1936). — [15] Lindemann, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **41**, 191 (1898). — [16] Paton, W. D. M., and E. J. Zaimis: J. of Physiol. **108**, 34 (1949). — [17] Randall, L. O.: Fed. Proc. **11**, 384 (1952). — J. of Pharmacol. **105**, 7 (1952). — [18] Schweitzer, A., and S. Wright: J. of Physiol. **88**, 459 (1936). — [19] Vulpian, A.: Arch. de Physiol. norm. et Pathologique **1**, 474 (1868). — [20] Welch, A. M., and M. H. Roepke: J. of Pharmacol. **55**, 118 (1935). — [21] Wien, R., and D. F. Mason: Brit. J. Pharmacol. **6**, 611 (1951). — [22] Wilbrandt, W., u. J. L. de la Cuadra: Helvet. Physiol. Acta **5**, 265 (1947).

Dr. H. Klupp, Wien IX/71, Währinger Straße 13 A, Pharmakolog. Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 184—193 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Professor L. Lendle).

Nachweis extrakardialer Digitaliswirkungen an der Ratte.

II. Mitteilung.

Darm- und Gefäßwirkung*.

Von
G. Hoffmann und L. Lendle.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Juli 1952.)

In einer vorausgegangenen Mitteilung haben Lendle und Oldenburg den Versuch unternommen, einige extrakardiale Digitaliswirkungen an der Ratte nachzuweisen, die bis zu 100fach höhere Digitalisdosen verträgt als andere Warmblüterarten, weil ihr Herz so wenig digitalisempfindlich ist. Es gelang in dieser Arbeit erst mit Dosen von 1—2 mg/kg Strophanthin und Digitoxin Wirkungen auf die Diurese, Körpertemperatur, Vagusreaktion (Herzfrequenz) und Skeletmuskulatur nachzuweisen, so daß also der praktische Wert dieser „Nebenwirkungen" toxischer Dosen wohl ohne wesentliche Bedeutung zu sein scheint. Noch nicht geprüft wurden damals die Wirkungen auf Darm- und Gefäßmuskulatur, die auch gelegentlich als Angriffspunkt von therapeutischen Digitaliswirkungen betrachtet werden.

Über die Möglichkeit von Digitaliswirkungen auf verschiedene Gefäßgebiete finden sich Literaturangaben in Heffter-Heubners Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Erg.-Werk I, S. 226. Es scheint danach nicht so, als ob wesentliche Einflüsse auf die Blutverteilung durch extrakardiale Digitaliswirkungen erfolgen. Es mag aber doch erwähnt werden, daß Wollheim gerade neuerdings wieder die Verminderung der zirkulierenden Blutmenge unter Digitalis auf eine direkte Wirkung der Glykoside auf die Blutdepots zurückführt. Nach Untersuchungen von Hildebrandt und Osterwald soll bei therapeutisch dosierten Strophanthingaben am gesunden Tier die primäre Senkung des Minutenvolumens durch Drosselung der Durchblutung im Splanchnicus und Extremitätengefäßgebiet zustande kommen.

Für das Coronargebiet liegen auch neuere Untersuchungen von Hildebrandt am Ganztier vor, die eine verbesserte Durchblutung des Herzens infolge Leistungsänderung entsprechend der von Rein vertretenen Auffassung zeigten.

Für eine Wirkung der Digitalisstoffe auf die Darmmuskulatur hat Sveč berichtet, daß Digitalis hier die Vaguswirkung (wie angeblich am Herzen) zu sensibilisieren vermöge. Er ermittelte am Meerschweinchendarm in situ in Anordnung nach Straub bei steigender Füllung die Schwelle für den Peristaltikreiz und prüfte insbesondere die erregende Wirkung intraarteriell injizierter Dosen von Acetyl-

* Herrn Professor Dr. E. Keeser-Hamburg zum 60. Geburtstag gewidmet.

cholin auf die Darmperistaltik vor und nach Digitalis bzw. Strophanthin. Er leitete aus seinen Beobachtungen, die auch an isolierten Darmstreifen bestätigt wurden, eine „Sensibilisierung für den Vagusstoff" ab. Die benötigten Gaben (Digitoxin 0,60 mg und g-Strophanthin 0,12 mg/kg) waren sicher schon toxisch. Svec hatte schon vorher die Hypothese ausgesprochen, daß Digitalis auf alle Organe wirke, deren Tätigkeit durch neurohumorale Mechanismen geregelt werden. In dieser Auffassung liegt also eine gewisse Übereinstimmung mit der noch allgemeineren Feststellung von Danielopolu, daß Digitoxin und Strophanthin keine eigentlichen Cardiaca seien, sondern am autonomen Nervensystem angreifende Pharmaka, die durch Inaktivierung der Cholinesterase die Acetylcholinwirksamkeit erhöhen und durch Ausschaltung sympathicolytischer Faktoren auch sympathische Wirkungen verstärken sollen.

Wir prüften auch zunächst am Meerschweinchendarm in situ nach Straub, ob und in welchen Digitalisdosierungen Darmwirkungen eintreten. Da wir diese Prüfung unter Dauerinfusion bis zur tödlichen Wirkung ausübten, konnte beurteilt werden, ob die Wirkung außerhalb der toxischen Wirkung erfolgte. Die Mehrzahl der Versuche wurden aber an der Ratte durchgeführt, gleichfalls am Darm in situ (Schornsteinmethode). In diesen Versuchen wurden zur gleichen Zeit die Längenänderungen der freigelegten Milz als Gefäßorgan registriert. Bei diesen Versuchen wurde neben der Eigenwirkung der Digitalisglykoside auch deren Einfluß gegen vegetative Gifte, wie Acetylcholin, Doryl und Adrenalin geprüft.

I. Versuche am Mereschweinchendarm in situ.

In der bekannten Methode nach Straub prüften wir die Beeinflussung der Peristaltik in Abhängigkeit von dem Füllungsdruck. Die dabei angewandte Urethandosis betrug 1,2 g/kg. Nach einer längeren Wartezeit nach dem operativen Eingriff (1 Std) und nachdem eine gleichmäßige peristaltische Tätigkeit registriert worden war, ließen wir die Glykoside mit einem Dauerinfusionsgerät von Hoffmann u. Witte so schnell intravenös einströmen, daß der Tod in ungefähr 50 min eintrat.

In je 4 Digitoxin- und g-Strophanthinversuchen, bei denen wir die Tonuslage, die Frequenz und die Höhe der Peristaltik sowie ihre Stärke beobachteten, zeigte sich keine sichere Steigerung des Tonus und der peristaltischen Tätigkeit. Dagegen traten ab 70% der tödlichen Dosis, d. h. im toxischen Bereich, Hemmungen der Darmtätigkeit auf. Nach Hoffmann und Wienke beginnen hier bereits Deformitäten und Extrasystolen im EKG, so daß wir diese Wirkungen am Darm nicht als eine direkte infolge Digitaliseinwirkung deuten wollen, sondern als eine Folgeerscheinung auf Grund des allgemeinen Kreislaufversagens. Nur in einem Fall zeigte sich im toxischen Bereich eine Steigerung der Wellentätigkeit auf g-Strophanthin.

Unsere Versuchsergebnisse widersprechen also den Angaben von Svec. Wir können dies nicht erklären, möchten aber nach vielfachen Erfahrungen an diesem Darmpräparat doch die Vermutung aussprechen,

daß kurzfristige Beobachtungen über einmalige Dehnungsreaktion vor und nach Giftzufuhr leicht Täuschungen unterliegen können, weil dieser Vorgang im Anfang steigende Verbesserungen aufweisen kann. Auch der Einfluß der Narkose kann eine veränderte Reaktionsfähigkeit leicht vortäuschen (vgl. unten). Ferner konnten wir in Versuchen am *isolierten* Darm von Kaninchen, Meerschweinchen und Ratte auch Svec in der Hinsicht nicht bestätigen, daß die Acetylcholinwirksamkeit durch Glykoside verstärkt wird im Sinne einer „Vagussensibilisierung" (Lendle).

II. Versuche am Darm und der Milz der Ratte in situ.

1. Methodik.

Wir beabsichtigten, zunächst die Digitaliswirkung auf den Rattendarm in der Anordnung nach Straub zu prüfen, mußten diese Versuche aber aufgeben, weil es am Rattendarm aus uns unbekannten Gründen nicht gelingt, peristaltische Wellen in Abhängigkeit vom Füllungsdruck zu erzeugen. Dies mißlang, obwohl wir die Urethannarkose an der untersten Grenze des Möglichen (0,6 –0,8 g/kg) hielten und stundenlang warteten, um eventuelle Schockreaktionen abklingen zu lassen.

Wir gingen daher zu dem älteren Verfahren nach Trendelenburg über, indem wir in einem Glasschornstein eine nichteröffnete Darmschlinge hochzogen und ihre Bewegungen nach Füllung der Bauchhöhle mit Ringer-Lösung registrierten. An dem gleichen Tier registrierten wir auch die Längenänderungen der Milz als einem Gefäßorgan, dessen Depotfunktion, wenigstens bei einigen Tierarten, als bedeutsam anerkannt ist. Methodisch schlossen wir uns dabei dem von Riechert beschriebenen Verfahren an. Milz- und Darmbewegungen wurden gleichzeitig übereinander auf Rußkurven registriert.

Wir benötigten eine Urethannarkose von 1 g/kg, zu der während der Operation Äther zudosiert wurde. Mit dem Registrieren wurde erst 1 Std nach erfolgter Operation begonnen. Die Lebensdauer des Präparates betrug bis 8 Std.

Zur allgemeinen Versuchsanordnung sei folgendes bemerkt: Es wurde jeweils diejenige Dosis der Glykoside gesucht, die eine sichere Wirkung zur Folge hatte. Da bei der Ratte auch in untertödlichen Digitalisdosen an Darm und Milz Wirkungen eintraten, die dann wieder abklangen, konnte in vielen einzelnen Versuchen und mit Zwischengaben anderer Pharmaka eine weitgehende Variation der Prüfungsfolge erreicht werden. Es wurde also nicht wie am Meerschweinchen eine Glykosidtitration bis zum Eintritt des Todes durchgeführt, sondern einzelne Dosen, pro Kilogramm berechnet, wurden intravenös injiziert. Wenn bei wiederholten Digitalisgaben das Abklingen der Wirkung nicht sicher war, besonders aber, um den Einwand einer eventuell möglichen Kumulation auszuschließen, wurden für die Berechnungen der wirksamen Grenzkonzentrationen nur die erstinjizierten Gaben zugrunde gelegt. In einer größeren Anzahl der Versuche wurde in einer Vorperiode die Empfindlichkeit gegen Acetylcholin, Doryl und Adrenalin ermittelt, so daß dann die Digitaliswirkung dazu in Vergleich gesetzt und überdies eine Änderung der Empfindlichkeit gegenüber den autonomen Nervengiften bei erneuter Verabreichung bestimmt werden konnte. Bei diesen Versuchen sahen wir gelegentlich eine Steigerung der Acetylcholinempfindlichkeit, wenn die Narkose abklang. Erneute Urethangaben verminderten aber sofort wieder die Kontraktionshöhe. Dies muß beachtet werden, da hierdurch „Sensibilisierungen" vorgetäuscht werden können.

2. Versuche am Darm.

Zunächst seien nach Versuchen an 17 Ratten die Grenzdosen in Tab. 1 zusammengestellt, die von den einzelnen Stoffen in mg/kg erforderlich waren, um eine Reaktion am Darm bzw. Milz auszulösen.

Am Beispiel des g-Strophanthins sei die Wirkung auf den Darm beschrieben. Bei einer Grenzkonzentration von 0,5—1,0 mg/kg setzte sofort eine im Verlauf von 2—3 min wieder abklingende Kontraktion des Darmes ein. Bei höherer Dosierung zeigte sich anfänglich eine Verstärkung, bei 10 mg/kg aber deutlich eine Abschwächung, und bei höheren Dosen, die wir nur fraktioniert gaben, war manchmal sogar eine Erschlaffung zu sehen. Eine anhaltende Änderung der Ausgangslage des Darmtonus erfolgte nicht.

Vorher wirksame Gaben von Acetylcholin zeigten nach 4—5 mg/kg g-Strophanthin im Bereich der ersten 30 min eine Abschwächung der Kontraktionshöhe, danach ein Zurückkehren auf die vorausgegangene Höhe bei gering verstärkter Motilität und Verlängerung der Kontraktionsdauer. Wir konnten somit eine Sensibilisierung nach Strophanthin nicht feststellen, höchstens eine geringe Motilitätssteigerung, deren Beginn längere Zeit nach der Strophanthineinwirkung liegt. Vorher eingestellte Gaben von Adrenalin zeigten unter g-Strophanthin immer denselben Wirkungseffekt.

Atropinisierung ergab keine eindeutige Abschwächung der ersten Strophanthingaben. Weitere Gaben sind wegen der oben beschriebenen Abschwächung mehrmaliger Gaben, d. h. größerer Dosen, nicht sicher zu beurteilen. Die Kontrolluntersuchung gegen Acetylcholin und das von uns meist verwendete Doryl (wir bevorzugten Letztgenanntes wegen seines langsameren Abbaues zur besseren Sichtbarmachung evtl. Sensibilisierungseffekte) ergaben Wirkungsaufhebung der vorher eingestellten Kontrollgaben, d. h. Atropin hatte die Wirkung dieser „Vagusstoffe" eindeutig gelähmt.

Das untersuchte k-Strophanthin ist bereits mit 0,2 mg/kg wirksam und entspricht in seinem qualitativen Verhalten dem g-Strophanthin. Es scheint nur die beim g-Strophanthin beobachtete Abschwächung fraktionierter Gaben kaum in Erscheinung zu treten.

Lanadigin zeigte nun im Gegensatz zum Strophanthin über die angedeutete Wirkungsabschwächung mehrmaliger Gaben hinaus bei 3—4 mg/kg ein deutliches Umschlagen in eine Erschlaffung, die ähnlich wie die Kontraktion in einigen Minuten von selbst abklang (Abb. 1). Eine Veränderung der Ausgangslage trat ebenfalls nicht ein. Die Motilitätssteigerung bei mehrmaligen Gaben nach längerer Zeit schien deutlicher ausgeprägt zu sein und besonders unter Acetylcholin aufzutreten, obwohl letzteres direkt nach Lanadigin — beginnend von 1 mg/kg —

stark abgeschwächt war. Atropin ließ die Kontraktionswirkung von Lanadigin innerhalb der ersten 30 min nach Zuführung etwas abgeschwächt erscheinen, war aber über diesen Zeitraum hinaus in der Dosierung von 0,25—0,5 mg/kg gegen Acetylcholin und Doryl wirksam. Im übrigen gilt das bereits oben beim g-Strophanthin Gesagte. Doryl war nach Lanadigin nicht verstärkt, sondern sogar abgeschwächt wirksam (Abb. 2), eine Sensibilisierung für das Vagusgift war nicht nachweisbar.

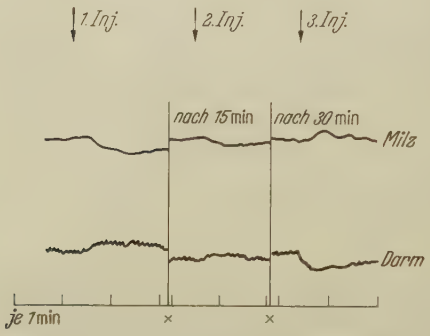


Abb. 1. Umkehr der Lanadiginwirkung bei höheren Dosen (Ratte). 1) 3 mg/kg intravenös. 2) 3 mg/kg intravenös ≙ 6 mg/kg. 3) 3 mg/kg intravenös ≙ 9 mg/kg. × Stillstand des Kymographions.

Zusammenfassend können wir sagen, daß die 3 Glykoside in den Grenzdosierungen eine spontan wieder abklingende Kontraktion des Darmes hervorrufen, bei höherer Dosierung tritt besonders für das Lanadigin eine ebenfalls spontan abklingende Lähmung zutage. Die aus diesen Dosen zu errechnenden Grenzkonzentrationen entsprechen größenordnungsmäßig den am isolierten Darm eben wirksam gefundenen Konzentrationen (Lendle). Dauernde Veränderungen der Ausgangs-

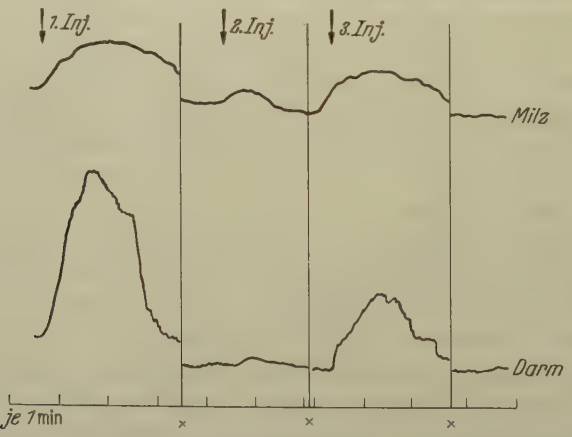


Abb. 2. Abschwächung von Doryl nach Lanadigin (Ratte). 1) 8 γ/kg Doryl intravenös. 2) 1 mg/kg Lanadigin intravenös. 3) 8 γ/kg Doryl intravenös (20 min später). × Stillstand des Kymographions.

lage konnten nicht beobachtet werden. Durch Acetylcholin hervorgerufene Kontraktionen werden gleich nach Glykosidgabe abgeschwächt, wobei für das Strophanthin eine 10fach höhere Dosis als die sonst

kontraktionswirksame erforderlich ist. Im Verlauf der Versuche zeigte sich eine gewisse Motilitätssteigerung der Pendelbewegungen. Eine sichere Abschwächung der Glykosidwirkung unter Atropin ließ sich nicht nachweisen.

III. Versuche an der Rattenmilz in situ.

Zu den Versuchen an der Milz seien einleitend Erfahrungen mit vegetativen Nervengiften mitgeteilt. Adrenalin bewirkte immer, beginnend mit einer Grenzdosis von 4 γ/kg eine in der Wirkung dosisabhängige Kontraktion, die im Verlauf von 5 min spontan reversibel war. Acetylcholin bewirkte von 2—4 γ/kg ab ebenfalls eine Kontraktion der Milz, die der von Adrenalin ähnelte. Unter Atropinisierung, wobei eine geringgradige Erschlaffung der Milz festzustellen war, bewirkte Acetylcholin eine Erschlaffung der Milz, die innerhalb 5 min ebenfalls wieder spontan zurückging (Abb. 3). Bei vorherigen Gaben von Atropin über 0,25 mg/kg konnte dieser Effekt nicht mehr ausgelöst werden. Acetylcholin war danach wie am Darm unwirksam. Eine Deutung dieses Befundes ist an Hand unserer Untersuchungen nicht möglich.

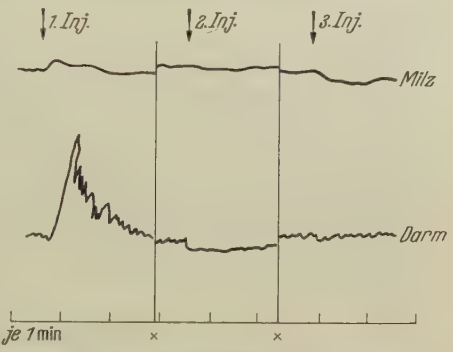


Abb. 3. 1) 10 γ/kg Acetylcholin. 2) 0,25 mg/kg Atropin. 3) 10 γ/kg Acetylcholin (nach 20 min). × Stillstand des Kymographions.

Am Beispiel des g-Strophanthins sei wieder das prinzipielle Wirkungsbild von Digitalis auf die Milz beschrieben. Die Grenzdosis (vgl. Tab. 1) bewirkte eine sofort einsetzende Kontraktion, welche langsamer als die für Adrenalin und Acetylcholin beschriebenen abklang und öfter in eine mäßige langdauernde Erschlaffung umschlug. Bei höheren Erstgaben sowie bei mehrmaliger fraktionierter Gabe von 1,0 mg/kg trat sogar eine spontan wieder abklingende stärkere Erschlaffung hervor.

Acetylcholin wirkte nur in einem Falle nach Strophanthin auch stärker kontraktionsfördernd, doch war diese Wirkung bei den anderen Versuchen nicht deutlich ausgeprägt, so daß es uns nicht angebracht

Tabelle 1. *Wirksame Grenzdosen in mg/kg an Ratten intravenös.*

Organ	k-Strophanthin	g-Strophanthin	Lanadigin
Milz	0,2	0,5—1,0	1,0
Darm	0,2	0,5	0,5—1,0

erscheint, daraus eine Sensibilisierung abzuleiten. Vorherige Atropinisierung zeigte keine Beeinflussung der Strophanthinwirkung.

Beim k-Strophanthin war die erschlaffende Wirkung höherer Dosen bzw. mehrmaliger Gaben nicht so stark ausgeprägt. Beim Lanadigin zeigten die Grenzdosen sowie größeren Gaben (5 mg/kg) oder mehrmalige Gaben eine Kontraktionswirkung, die langsamer als die Adrenalin- und Acetylcholinkontraktion abklang, während Dosen von 1—5 mg/kg eine reversible Erschlaffung auslösten. Bis auf die durch eben wirksame Grenzdosen ausgelösten Kontraktionen *verlaufen die Milzbewegungen zu den Darmbewegungen gegensinnig*. Dies war beim Lanadigin besonders deutlich (Abb. 1).

Atropin zeigte ebenfalls keine eindeutige Beeinflussung der nachfolgenden Lanadiginmedikation. Die Acetylcholinwirkung schien direkt nach der Lanadigingabe an der Milz etwas verstärkt, doch ließ sich über eine längere Beobachtungszeit dieser Befund nicht konstant erheben. Im Hinblick auf die eingangs erwähnte Mitteilung über die scheinbare Acetylcholinsensibilisierung infolge Abklingens der Narkose müßte ja dann eine Verstärkung der Acetylcholinwirkung besonders gut in Erscheinung treten, was aber nicht zu beobachten war (Abb. 2).

Vergleichende Betrachtungen.

Die beiden Organe Darm und Milz zeigen gegen die geprüften Glykoside kein ganz gleichmäßiges Verhalten. Quantitativ gesehen scheint die Empfindlichkeit gleich zu sein, denn die wirksamen Grenzkonzentrationen führen an beiden Organen zu einer spontan reversiblen Kontraktion. Diese Dosen stimmen bei Umrechnung auf die entstehende Verdünnung im Organ größenordnungsmäßig mit den am isolierten Darm wirksam gefundenen Konzentrationen überein, so daß die in vivo beobachtete Glykosidwirkung wohl als eine periphere angesprochen werden darf. Beim Meerschweinchen wurden diese Wirkungen gerade mit den tödlichen Dosen erreicht. Es war daher auch von vornherein keine peripher angreifende Glykosidwirkung zu erwarten. Am isolierten Meerschweinchen- und Rattendarm sind die gleichen Konzentrationen wirksam (Lendle). Auch in der Klinik werden diese Dosen nie erreicht und periphere Digitaliswirkungen am glatten Muskel können somit wohl ausgeschlossen werden. Einen Sonderfall bildet vielleicht die Strophoralmedikation, wo wegen der hohen Dosen auch extrakardiale Wirkungen mitspielen (Hoffmann).

Nach höheren Dosen reagieren die beiden Organe Darm und Milz gegensinnig, und auch die Glykoside zeigen dann ein unterschiedliches Verhalten. Die Darmkontraktion wird von einer Milzerschlaffung begleitet oder umgekehrt die Darmerschlaffung von einer Milzkontraktion; beim Lanadigin ist dies am ausgeprägtesten. Ursächlich hierfür könnte man eine Tachyphylaxie oder Schädigungen am Erfolgsorgan annehmen. Die Spontanerholung könnte durch die schnelle Elimination der

Ratte bedingt sein, dagegen spricht dann allerdings die länger dauernde Hemmung für Acetylcholin. Da nun aber für viele Stoffe ein gegensinniges Verhalten an Darm und Milz in vivo bekannt ist (Gotsev) und ferner auch das verschiedene Verhalten der einzelnen Gefäßgebiete unter Digitalis (Osterwald u. Meurer), selbst bei toxischer Dosierung (Magnus), so ist wohl auch bei unseren Befunden eine reflektorische Ausgleichsfunktion zwischen Darm und Milz am wahrscheinlichsten, die in der Lage ist, Kontraktionseffekte nach Digitalis abzuschwächen, ja sogar umzukehren.

Rückschlüsse auf den Blutdruck lassen sich aus dem Verhalten der Milz nicht ziehen (Mertens), obwohl andererseits die Milz selbst wieder durch den Blutdruck über den Carotis-sinus beeinflußt wird (Heymans, Holtz).

Bei unserer Suche nach Sensibilisierungseffekten für Acetylcholin nach Digitalisgaben fand sich nicht nur keine Sensibilisierung, sondern das Gegenteil: Die Darm-Kontraktion nach Acetylcholin wurde unter Glykosideinwirkung abgeschwächt. Der Grad der Abschwächung durch die einzelnen Glykoside ist recht unterschiedlich. Für Lanadigin steht die kontraktionswirksame Dosis zur Acetylcholin hemmenden Dosis im Verhältnis 1:2, für Strophanthin im Verhältnis 1:10. Ähnliche Unterschiede finden wir am Gefäß gegenüber der Adrenalinempfindlichkeit. Das Digitoxinverhältnis ist 1:1, das k-Strophanthin-Verhältnis 1:20 (Lendle u. Puhlmann).

Zu dem Einwand, Adrenalin sei am Darm aber immer voll wirksam, kann auf die ausführlichen Untersuchungen von Meier u. Tripod verwiesen werden, wonach viele Stoffe zwar die Kontraktionen unter vegetativen Nervengiften an glattmuskeligen Organen hemmen, Erschlaffungseffekte derselben dagegen vollkommen unbeeinflußt lassen. Wieweit dies auch für Glykoside zutrifft, wird von Hoffmann zur Zeit untersucht.

Die Problematik im Verhalten der Glykoside gegenüber den vegetativen Nervengiften wäre demnach am Darm und Gefäß vielleicht weniger in einer Acetylcholin- bzw. Vagussensibilisierung zu suchen, als vielmehr in einer Abschwächung ihrer Wirkung durch die einzelnen Glykoside, wie es schon Lendle u. Wienke diskutierten. Dabei ist das Verhalten der einzelnen Glykoside recht wechselnd, sowohl in den Beeinflussungen von Adrenalin und Acetylcholin (Hoffmann) als auch untereinander — wie oben gezeigt wurde —.

Die von uns erhobenen Befunde über die relativ geringe Wirksamkeit der Digitalis-Glykoside am glatten Muskel des Darmes und Gefäßorganes (Milz) mögen noch kurz im Hinblick auf die höhere Spezifität der Herzwirksamkeit geprüft werden. Man führt sie wohl mit Recht auf die spezifische Verteilung der Glykoside zurück. Weese ermittelte aus der sogenannten „Aufbrauchdosis" am isolierten Herzen gegenüber der letalen Hatcherdosis am ganzen Tier, daß 10% der Gesamtdosis im Herzen festgehalten werden, was dessen Vorzugsstellung im Kreislauf (10% Anteil am Blutumlauf) entspricht.

Legt man diesen Wert den Dosierungsverhältnissen der Klinik zu Grunde, so findet man, daß 10% der therapeutischen Dosis Strophanthin (0,25 mg) auf 280 g Herz verteilt eine Gewebskonzentration 10^{-7} liefern kann. Ähnliche Werte für k-Strophanthin fanden wir auch schon am isolierten Darm als wirksam. Gerade diese Berechnung beweist aber umgekehrt auch noch einmal, daß und warum die extrakardiale Darm- und Gefäßwirkung bei therapeutischen Strophanthindosierungen keine Rolle spielen kann. Die Herzspezifität der Wirkung beruht auf der bevorzugten Bindungsmöglichkeit, nicht auf der bevorzugten Wirksamkeit am glatten Herzmuskel. Freilich muß man wohl darin einen Grund zur bevorzugten Herzwirkung sehen, daß dieses Organ, wenn es geschädigt ist, auf therapeutische Dosen stärker anspricht als ein ungeschädigter glatter Muskel.

Zusammenfassung.

An Ratten, deren Herz gegen Digitalis weniger empfindlich ist, konnten sehr hohe Dosen von Glykosiden intravenös verabreicht werden, um extrakardiale Wirkungen auf den Darmmuskel in vivo und auf die Milz als Gefäßorgan zu ermitteln.

Am Darm wirkten k-Strophanthin 0,2 mg/kg, g-Strophanthin 0,5 bis 1,0 mg/kg und Lanadigin 0,5 mg/kg reversibel kontrakturauslösend. Bei höherer Dosierung von Lanadigin schlug die Wirkung in Lähmung um. Die Wirkungen waren durch Atropin nicht abzuschwächen. Acetylcholin und Doryl zeigten nach den Glykosiden keine Verstärkung im Sinne einer Sensibilisierung des Vagus, sogar eher ein gegenteiliges Verhalten.

An der Milz, die nach Adrenalin und Acetylcholin eine Kontrakturwirkung zeigte, wirkten die Digitalisstoffe ebenfalls kontrahierend mit Übergang in Erschlaffung, besonders in höheren Dosierungen. Die Milzbewegungen liefen zum Teil gegensinnig zur Darmreaktion, besonders bei Lanadigin. Atropin zeigte keine antagonistische Wirkung, Acetylcholin und Doryl wurden durch die Glykoside nicht verstärkt.

Die beobachteten Darm- und Milzwirkungen der Glykoside sind direkt peripher ausgelöst. Nach Umrechnung aus den erforderlichen hohen Dosen am ganzen Tier sind die gleichen Konzentrationen wie am isolierten Darm wirksam. Eine Beteiligung dieser extrakardialen Wirkungen ist im therapeutischen Dosierungsbereich unwahrscheinlich. Die Herzspezifität der Digitaliswirksamkeit gegenüber der Darmwirksamkeit dürfte nach rechnerischer Überlegung hauptsächlich auf der bevorzugten Bindungsmöglichkeit des Herzens auf Grund seines relativ hohen Durchblutungsanteils beruhen.

Literatur.

Danielopolu: C. r. Soc. Biol. Paris **138**, 771 (1944). — Gotsev: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **201**, 172 (1943). — Hildebrandt u. Osterwald: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **190**, 209, 595 (1938). — Hildebrandt, F.: Arch. Kreislaufforschg **8**, 137 (1941). — Hoffmann, G.: Münch. med. Wschr. **94**, 1083 (1952). — Hoffmann: a. O. — Hoffmann, G., u. L. Lendle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 376 (1951). — Hoffmann, G., u. Witte: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 221 (1950). — Hoffmann, G., u. Wienke: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. — Holtz, P., u. Schümann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 1 (1950). — Lendle, L.: Arzneimittelforschg **1**, 104 (1951). — Lendle, L., u. D. Oldenburg: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 243 (1950). — Lendle, L., u. H. Puhlmann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **193**, 122 (1939). — Lendle, L., u. Wienke: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 374 (1951). — Magnus: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **47**, 135 (1902). — Mertens: Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Biologie Bd. I, 261 (1935). — Meier, R., u. Tripod: Helvet. Physiol. Acta **8**, 137 (1950). — Osterwald u. Meurer: Z. Kreislaufforschg **31**, 522 (1939). — Rein, H.: Z. Biol. **92**, 101 (1931). — Riechert, F., u. Schmieder: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **198**, 121 (1941). — Straub, W., u. Mitarb.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **169**, 1, 9 (1933). — Svec: Wien. klin. Wschr. **1942**, S. 908. — Sveč u. Mitarb.: Schweiz. med. Wschr. **74**, 1320 (1944). — Trendelenburg, P., zit. nach Riechert. — Weese, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **135**, 228 (1928); **141**, 329 (1929). — Wollheim, E.: Dtsch. med. Wschr. **1950**, S. 482.

Prof. Dr. L. Lendle, Göttingen, Geiststraße 9, Pharmakologisches Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 194—206 (1953).

Aus dem Physiologischen Institut der Friedrich-Schiller-Universität Jena.

Weitere sinnesphysiologische Untersuchungen über die Wirkung des γ-Hexachlorcyclohexan.

Von

FRIEDRICH SCHWARZ.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. Juli 1952.)

Es ist bekannt, daß das γ-Isomere des Hexachlorcyclohexans (γHCC) auf Wirbeltiere eine zentral stimulierende Wirkung hat. Bei Fröschen ruft das γHCC eine zentralnervöse Übererregbarkeit hervor, die sich auch darin zeigt, daß die Tiere auf *Lichtreize* hin mit Zuckungen oder Krampfanfällen reagieren. Hierüber habe ich vor kurzem (1952) in diesem Archiv berichtet.

Bei meinen Versuchen, in denen ein Lichtstoß zusätzlich zu einem Dauerlicht gegeben oder durch eine Lichtlücke von dem Dauerlicht ein Teil weggenommen wurde, konnten *Schwellen* für die Wirksamkeit der Lichtstöße und Lichtlücken ermittelt werden. Der Zusammenhang dieser Schwellen mit dem Vergiftungszustand der Tiere ist in der vorliegenden Arbeit untersucht worden. Über die Reaktion der Frösche auf *rhythmische* Lichtstöße und Lichtlücken soll hier ebenfalls berichtet werden. Auch die Untersuchungen mit *farbigem* Licht wurden fortgesetzt.

Schließlich wurden die Versuche auf einige andere *Kaltblüter* (Teichmolch, Triturus vulgaris L.; Kleinfische von etwa 9 cm Länge: Karausche, Carassius vulgaris Nils. und Gründling, Gobio fluviatilis Cuv.) und auf *Warmblüter* (weiße Maus, weiße Ratte) ausgedehnt.

Methodik.

Es wurde reines γHCC verwendet, das mir vom Elektrochemischen Kombinat Bitterfeld zur Verfügung gestellt worden war. Das γHCC wurde nach den Angaben von HOFFMANN u. LENDLE (1948) in heißem Alkohol gelöst und unter Zusatz von Adhaegon (v. Heyden, Radebeul) als indifferentem Emulgator mit RINGER-Lösung für die Versuche an Fröschen oder mit Wasser für die Versuche an Fischen und Molchen verdünnt. Die Giftemulsion wurde den Fröschen in den Rückenlymphsack injiziert oder sie wurde dem Wasser beigegeben, in dem sich die Fische und Molche aufhielten. Den Warmblütern wurde das γHCC in Mohnöl gelöst in die Bauchhöhle injiziert.

Die Methodik der optischen Reizung habe ich in meiner früheren Mitteilung (1952) beschrieben, so daß ich mich hier auf das Wesentliche und auf das Neue beschränken kann: Um die Beleuchtungsstärke stufenweise meßbar erhöhen oder

erniedrigen, also um das Tier mit Lichtstößen und mit Lichtlücken reizen zu können, wurden in den Strahlengang eines Kleinbildprojektors Neutralfiltergläser (Schott und Genossen, Jena) gebracht, die es gestatteten, die Beleuchtungsstärke in kleinen oder großen Sprüngen abzustufen.

Um die Wirkung einer rhythmisch intermittierenden Belichtung auf vergiftete Frösche untersuchen zu können, wurde der Kollektor einer Niedervolt-Mikroskopierlampe (Carl Zeiss, Jena) in einen solchen Abstand von der Glühlampe gebracht, daß im Strahlengang einige Zentimeter vom Kollektor entfernt eine Einschnürung entstand und die Lichtstrahlen von hier aus in einem spitzen Kegel divergent weiterliefen; das Licht fiel auf einen Planspiegel (30×40 cm), der in einem Stativ um 45° geneigt angebracht war und das Versuchstier im Glastrog von oben her beleuchtete. Am Ort der Einschnürung im Strahlengang befand sich eine rotierende lichtundurchlässige Scheibe, die mit Schlitzen versehen war und je nach der Umdrehungsgeschwindigkeit den Strahlengang in schnellerem oder langsamerem Rhythmus freigab und wieder verdeckte. Belichtungszeit und Dunkelpause waren immer gleichlang. Durch Anbringen der rotierenden Scheibe in der Einschnürung des Strahlengangs wird erreicht, daß die Lichtstöße annähernd rechteckig sind; dies ist wegen der Ein- und Ausschleichbarkeit der Lichtreize nötig (siehe meine frühere Mitteilung 1952). Die rotierende Scheibe wird durch einen Gleichstrommotor bewegt, dessen Stator dauernd unter voller Spannung steht, während die Spannung für den Rotor durch einen Schiebewiderstand in Spannungsteilerschaltung variiert werden kann. Dadurch wird die Umdrehungsgeschwindigkeit reguliert. Die Schaltung gewährleistet auch bei geringer Umdrehungszahl eine gleichmäßige Rotation der Scheibe. Die Umdrehungsgeschwindigkeit wurde mit Hilfe einer Zentimetereinteilung des Rheostaten und einer Stoppuhr geeicht. Während der Versuche wurde für eine schwache Raumbeleuchtung gesorgt, um die Wirkung der Lichtlücken und der Lichtstöße, die wegen der Länge der Reflexzeit gelegentlich in die Dunkelpause fiel, beobachten zu können. Die Raumbeleuchtung ergab am Boden des Glastroges eine Beleuchtungsstärke von 6 Lux. Die Mikroskopierlampe ergab eine Beleuchtungsstärke von 28 Lux, die rhythmisch zur Grundbeleuchtung von 6 Lux hinzukam.

Um die Reizwirkung *energiegleichen farbigen* Lichtes zu untersuchen, wurden Farbfiltergläser (Schott und Genossen, Jena) in den Strahlengang des Kleinbildprojektors gebracht. Die Spannung für die 110 Volt-Lampe des Projektors wurde mit Hilfe eines regulierbaren Vorwiderstandes konstant auf 100 Volt gehalten und laufend kontrolliert, weil die Zuverlässigkeit von Farbenversuchen mit der Konstanz der Farbtemperatur des Glühfadens steht und fällt. Es wurden folgende Filtergläser oder Filterglassätze verwendet: Rot: RG 2, 2 mm dick, Durchlässigkeit 720—650 mμ, Hauptdurchlässigkeit bei 685 mμ; Gelb: OG 1, GG 6, GG 7, GG 8, GG 11, je 2 mm dick, mit Luftspalt zwischen den einzelnen Gläsern wegen des Reflexionsfaktors, Durchlässigkeit 700—530 mμ, Hauptdurchlässigkeit bei 600 mμ; Grün: VG 11, BG 18, je 2 mm dick, mit Luftspalt, Durchlässigkeit 600 bis 490 mμ, Hauptdurchlässigkeit bei 550 mμ; Blau: BG 12, 2 mm dick, Durchlässigkeit 510—420 mμ, Hauptdurchlässigkeit bei 480 mμ.

Um die farbigen Lichter energiegleich zu machen, wurde die von den Farbfiltern und -filtersätzen durchgelassene Lichtenergie mit Thermosäule und Galvanometer gemessen (Infrarotstrahlung wurde von der Thermosäule durch Einhalten eines großen Abstandes zwischen Projektor und Thermosäule und durch Vorschalten von Infrarotfiltern weitestgehend ferngehalten). Dabei zeigte es sich, daß der Grünfiltersatz die kleinste Lichtenergie durchließ. Die anderen farbigen Lichter wurden durch Vorsetzen von Neutralfiltern vor die Farbfilter mit Grün energiegleich gemacht (auf gleichen Galvanometerausschlag einreguliert).

Die Reizwirkung des farbigen Lichtes wurde auf folgende Weise untersucht: Eine schwache, gelblich-weiße Raumbeleuchtung machte am Boden des Glastroges, in dem das Versuchstier saß, eine Beleuchtungsstärke von 6 Lux. Das farbige Licht des Projektors wurde durch schnelles Wegziehen eines Blechstückes freigegeben. Durch Vorsetzen von Neutralfiltern wurde dieser farbige Lichtstoß so groß gemacht, daß er gerade eine merkliche Zuckung hervorrief. Analog wurde durch schelles Wiedervorsetzen der Blechscheibe die Schwellenwirkung der Lichtlücke ermittelt. Angaben in Lux können nicht gemacht werden, da ja dazu ein subjektiver Helligkeitsvergleich zwischen farbigem und weißem Licht durch den Menschen nötig gewesen wäre. Es wurde vielmehr die größte erzielte Lichtenergie bei Energiegleichheit der farbigen Lichter gleich 1 gesetzt und ermittelt, welcher Bruchteil davon zur Schwellenwirkung nötig war.

A. Versuche an Fröschen.

Es wurden Versuche an mit 5 mg γHCC vergifteten Fröschen angestellt, wie sie in Abb. 2 meiner früheren Mitteilung wiedergegeben worden sind[1]. Die Beleuchtung $J + \Delta J$ war dauernd eingeschaltet. Durch schnelles Vorschalten verschieden starker Neutralfilter wurde die Beleuchtungsstärke soweit (auf J) herabgesetzt, daß es gerade zu einer Zuckung kam; der für die Schwellenwirkung wegzunehmende Anteil der Beleuchtungsstärke (die Lichtlücke) wird ΔJ genannt. In einer zweiten Messung wird durch Wegnehmen des Filters die volle Beleuchtungsstärke $J + \Delta J$ wieder hergestellt. Es wurde gemessen, von welchem J aus ΔJ wieder zugegeben werden muß, damit es beim plötzlichen Lichtstoß von J zu $J + \Delta J$ zu einer Schwellenzuckung kam. Der Quotient $\frac{J}{\Delta J}$ ist um so größer, je empfindlicher das Tier gegen Lichtreize ist[2].

Die Messungen an den Fröschen begannen sofort nach der Injektion des Giftes und wurden bis zum Abklingen der optischen Reizbarkeit oder bis zum Tode durchgeführt. Es zeigte sich, daß die meisten Tiere 30 bis 50 min nach der Injektion optisch reizbar wurden, und zwar zunächst nur mit sehr großen Lichtstößen und Lichtlücken, so daß $\frac{J}{\Delta J}$ einen kleinen Wert annahm. Mit zunehmender Vergiftung stieg die Reizbarkeit an, ΔJ wurde kleiner, $\frac{J}{\Delta J}$ größer. Nach etwa 24 Std. waren die meisten Frösche auf der Höhe der Empfindlichkeit. In Abb. 1 sind die Befunde wiedergegeben worden. Die Abszisse (Zeitkoordinate) ist logarithmisch geteilt, weil sich so das An- und Abklingen der optischen Reizbarkeit übersichtlich darstellen läßt. Man sieht, daß die Empfindlichkeit in den ersten 24 Std. nach der Vergiftung zunimmt, sich bis

[1] Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **216**, S. 362.

[2] Bei der Messung von Unterschiedsschwellen läßt man gewöhnlich J konstant und gibt den Quotienten $\Delta J/J$ an. Aus technischen Gründen war es hier zweckmäßiger, $J + \Delta J$ konstant zu halten, und wegen der besseren Übersichtlichkeit habe ich den Quotienten $J/\Delta J$ berechnet.

zum Ende des 2. Tages auf der Höhe hält und dann im Verlauf der nächsten Tage allmählich abnimmt. Die Abb. 1 gibt die Befunde bei 50 Temporarien wieder, es sind die Ergebnisse der Messungen mit Lichtlücken dargestellt worden. Die Befunde mit Lichtstößen waren praktisch gleich, da den Fröschen, die gegen Lichtlücken empfindlicher sind, etwa gleichviel gegenüberstehen, die auf Lichtstöße besser reagieren.

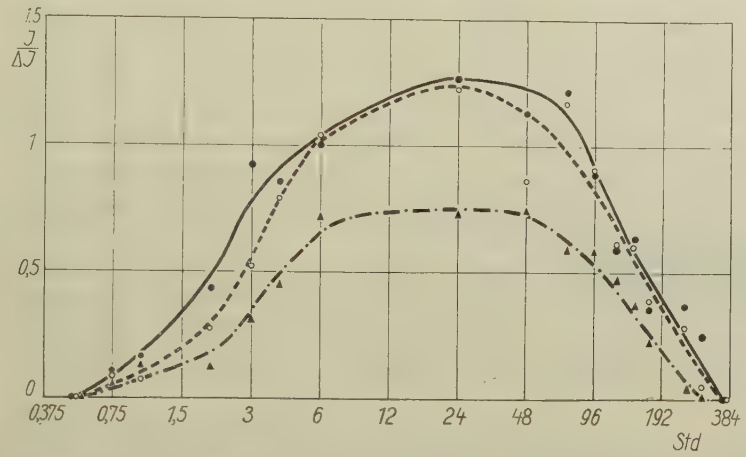


Abb. 1. Empfindlichkeit des mit γHCC vergifteten Frosches gegenüber Lichtreizen (hier: Lichtlücken). Abszissen: Zeit in Std. Ordinaten: Empfindlichkeit, ausgedrückt durch $J/\Delta J$. Schwarze Punkte und ausgezogene Kurve: $J + \Delta J = 1000$ Lux. Weiße Punkte und punktierte Kurve: $J + \Delta J = 200$ Lux. Schwarze Dreiecke und strichpunktierte Kurve: $J + \Delta J = 30$ Lux.

Es wurden Versuche bei 3 verschiedenen Beleuchtungsstärken $J + \Delta J$ angestellt. In Abb. 1 fallen die Kurven, die bei einer Ausgangs-Beleuchtungsstärke von 1000 Lux und bei einer solchen von 200 Lux erhalten wurden, praktisch zusammen, d. h. unabhängig vom absoluten Wert von $J + \Delta J$ ist $\frac{J}{\Delta J}$ annähernd gleich, wenn man die Befunde jeweils nach der gleichen Vergiftungszeit vergleicht. Bei einer Beleuchtungsstärke von $J + \Delta J = 30$ Lux ist die Lichtempfindlichkeit der Frösche deutlich geringer (s. Abb. 1). Man könnte daraus schließen, daß in einem mittleren Helligkeitsbereich das Weberscbe Gesetz $\left(\frac{\Delta J}{J} = \text{const}\right)$ gilt, während nach schwächeren Beleuchtungsstärken hin $\frac{\Delta J}{J}$ größer werden muß. Um dies zu prüfen, wurden weitere Versuche mit verschiedenen Beleuchtungsstärken $J + \Delta J$ angestellt. Tab. 1 zeigt die Ergebnisse: bei den Beleuchtungsstärken 200 und 1000 Lux sind die $\frac{\Delta J}{J}$-Werte praktisch gleich, bei geringerer Helligkeit sind sie größer.

Tabelle 1. *50 Temporarien, jede mit 5 mg γHCC vergiftet, 24 Std nach der Injektion des Giftes mit Lichtstößen gemessen.* Es sind die arithmetischen Mittel aller Messungen angegeben.

$J + \Delta J$ (Lux)	J (Lux)	ΔJ (Lux)	$\frac{\Delta J}{J}$
7,5	0,02	7,48	374,00
30,0	10,50	19,50	1,86
200,0	102,00	98,00	0,96
1000,0	530,00	470,00	0,89

Um weiterhin die Gültigkeit des Weberschen Gesetzes für einen mittleren Helligkeitsbereich zu prüfen, wurden die Befunde statistisch ausgewertet. Die Ergebnisse sind in Tab. 2 wiedergegeben worden.

Aus Tab. 2 geht hervor, daß die Unterschiedsschwellen bei 1000 und bei 200 Lux gleich sind, also das Webersche Gesetz gilt, und daß die Unterschiedsschwellen nach geringerer Helligkeit zu (30 Lux) größer werden. Dies stimmt mit den bekannten Befunden der Sinnesphysiologie überein, daß das Webersche Gesetz in der Nähe der absoluten Empfindungsschwelle nicht mehr gilt.

Tabelle 2. *50 Temporarien, jede mit 5 mg γHCC vergiftet, 24 Std nach der Injektion des Giftes gemessen.* Es sind die arithmetischen Mittel aller Messungen angegeben, und zwar die relative Lichtintensität ($J + \Delta J = 1$ gesetzt), die das Neutralfilter unter Schwellenbedingungen durchläßt; $J_{rel} = 0{,}5$ bedeutet z. B., daß das Neutralfilter 1000 Lux auf 500 Lux, 200 Lux auf 100 Lux und 30 Lux auf 15 Lux herabsetzt.

$J + \Delta J$ (Lux) →	1000	200	30
Licht-lücke	$J_{rel} \pm m \rightarrow$ 0,56 ± 0,0226	0,55 ± 0,0268	0,42 ± 0,0330
	$D = 0{,}01 \pm 0{,}0351$; $t = 0{,}29$	$D = 0{,}13 \pm 0{,}0426$; $t = 3{,}05$ (w)	
	$D = 0{,}14 \pm 0{,}0400$; $t = 3{,}50$ (w)		
Licht-stoß	$J_{rel} \pm m \rightarrow$ 0,53 ± 0,0238	0,51 ± 0,0250	0,35 ± 0,0297
	$D = 0{,}02 \pm 0{,}0345$; $t = 0{,}60$	$D = 0{,}16 \pm 0{,}0388$; $t = 4{,}12$ (w)	
	$D = 0{,}18 \pm 0{,}0380$; $t = 4{,}74$ (w)		

Anmerkung: m = mittlere Abweichung des arithmetischen Mittels J_{rel}, D = Differenz zwischen J_{rel} bei 1000 Lux und J_{rel} bei 200 Lux bzw. bei 200 und 30 Lux und 1000 und 30 Lux. Nach den Werten von D ist m_D = mittlere Abweichung der Differenz D angegeben. $t = \frac{D}{m_D}$; der Quotient aus D und m_D ist ein Maß für die Wahrscheinlichkeit, daß zwischen den beiden Kollektiven J_{rel} (1000 Lux) und J_{rel} (200 Lux) usw. ein Unterschied besteht oder nicht besteht. (w) bedeutet, daß mit mehr als 99% Wahrscheinlichkeit ein Unterschied zwischen beiden Kollektiven besteht.

Bei der Reizung vergifteter Frösche mit rhythmisch intermittierendem Licht zeigte es sich, daß bei den meisten Tieren nach einer mehr oder weniger langen Serie von Lichtreizen die Zuckungen, die auf jeden Lichtstoß oder auf jede Lichtlücke oder auf beide hin zustande kamen, nachließen und schließlich ganz aufhörten. Es gab aber Frösche, bei denen es nach der Darbietung einer Reihe von Lichtstößen oder -lücken

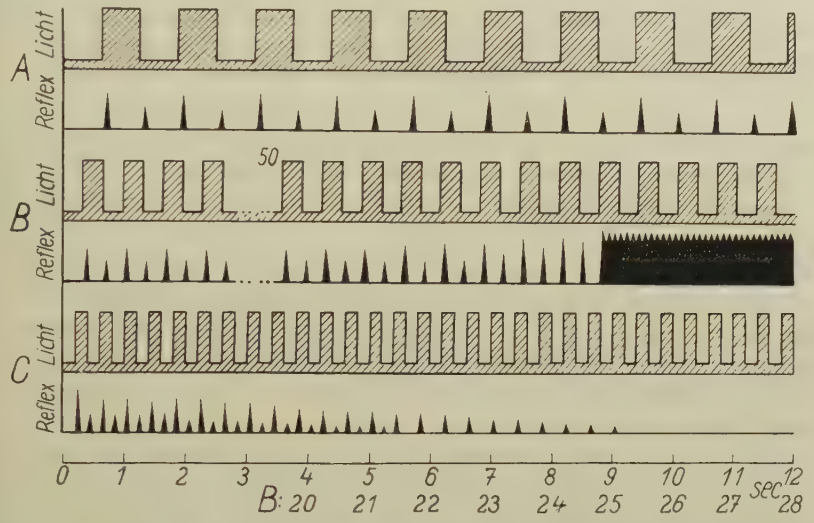


Abb. 2. Reaktion des mit γHCC vergifteten Frosches auf rhythmisch unterbrochenes Licht. Abszissen: Zeit in sec. Ordinaten: Licht: Dauerlicht von 6 Lux, auf das sich Lichtblitze von 28 Lux aufsetzen. Reflex: Die Höhe der spitzen Dreiecke deutet das Ausmaß der Zuckung an. Sägezackkurve in Teil B: Krampf.

zu Krämpfen kam. Die Krämpfe ließen sich bei ein und demselben Tier nur durch Lichtblitzfrequenzen in einem engen Frequenzbereich auslösen. In Abb. 2 ist eine Versuchsreihe an einem vergifteten Frosch dargestellt worden: Bei einer Frequenz von 8 Lichtstößen in 10 sec (A) antwortet der Frosch „unermüdlich" mit Zuckungen auf Lichtstoß und auf Lichtlücke (auf letztere etwas schwächer). Bei einer Frequenz von 25 Lichtstößen in 10 sec (C) antwortet der Frosch mit schwächer werdenden Zuckungen, zunächst hören die Reaktionen auf Lichtlücke auf, etwas später verschwinden auch die Zuckungen auf Lichtstoß, der Frosch sitzt dann reaktionslos in dem grobflimmernden Licht. Bei einer Frequenz von 15 Lichtstößen in 10 sec (B) antwortet der Frosch zunächst gleichmäßig auf Lichtstoß und Lichtlücke (auf letztere schwächer); etwa vom 50. Lichtstoß an nimmt das Ausmaß der Zuckungen zu, und vom 58. Lichtstoß an treten allgemeine tonisch-klonische Krämpfe auf, die auch eine Zeitlang anhalten, wenn die Lichtreizung

jetzt eingestellt wird, und die mit einer allgemeinen Ermattung des Frosches enden, von der er sich, in Ruhe gelassen, allmählich erholt (Anziehen der Beine, Einnehmen der normalen Hockstellung).

Die Latenzzeit (Reflexzeit) der Zuckungen auf die Lichtreize hin schätze ich auf 0,2—0,7 sec (sie ist individuell verschieden, ihre Messung steht noch aus). Daraus ergibt sich, daß bei höheren Reizfrequenzen die Zuckungen mehr oder weniger hinterherhinken müssen. Bei einer Reizfrequenz von 25 Lichtblitzen in 10 sec (C) und bei Reaktion des Frosches sowohl auf Lichtstoß als auch auf Lichtlücke kommt es zu 5 Reizen je Sekunde, die einen Abstand von 0,2 sec voneinander haben. Nur bei den schnell reagierenden Fröschen ist es möglich, mit einiger Sicherheit zu beobachten, welche Zuckung von welchem Reiz ausgelöst wurde.

Von 33 Fröschen, die wir in einer Versuchsserie laufend untersuchten, bekamen 7 Tiere in einem Frequenzbereich zwischen 8 und 20 Lichtblitzen in 10 sec Krämpfe. Bei den übrigen 26 Fröschen ließen sich keine Krämpfe auslösen, trotz des „Abtastens" mit verschiedenen Frequenzen von 3 bis 40 Lichtblitzen in 10 sec. Die Tiere wurden 20—30 Std. nach der Injektion des Giftes untersucht, das „Abtasten" mit den verschiedenen Frequenzen und die Ruhepausen dazwischen nahmen 6—8 Std. in Anspruch. Eine ganze Anzahl Frösche wurde auch an 2 aufeinander folgenden Tagen untersucht. 3 von diesen Tieren bekamen an beiden Tagen Krämpfe im gleichen Frequenzbereich, aber nicht bei derselben Frequenz.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde die Reizwirkung energiegleichen farbigen Lichtes auf vergiftete Frösche untersucht. Die Frösche wurden 20—30 Std. nach der Injektion des γHCC, also auf der Höhe der optischen Reizbarkeit, untersucht. Mit Ruhepausen von $\frac{1}{2}$ bis 1 Std. zwischen den Messungen mit einer Farbe wurden bei dem einen Tier die Farben in der Reihenfolge Rot, Gelb, Grün, Blau, beim nächsten Frosch in der umgekehrten Reihenfolge dargeboten. Es wurden 30 Eskulenten untersucht, die alle auf Lichtstoß besser reagierten als auf Lichtlücke. Bei allen Tieren ließ sich der gleiche Befund erheben: *Grüne* Lichtstöße und Lichtlücken waren am wirksamsten, man kam mit den kleinsten Lichtreizen aus, um eine gerade beobachtbare Zuckung hervorzurufen. Es wurden nun die reziproken Werte der Schwellen-Lichtstöße und -lücken errechnet, sie sind ein Maß für die Empfindlichkeit des Tieres gegenüber den farbigen Lichtreizen. In Abb. 3 sind die Ergebnisse dargestellt worden. Es sind die arithmetischen Mittel aus den reziproken Schwellenwerten errechnet und eingetragen worden. Man sieht, daß die Empfindlichkeit der Frösche im *Grün* weitaus am größten ist, daß sie für Blau etwas größer als für Gelb ist und daß sie bei Rot am niedrigsten ist. Die Kurven der Abb. 3 stimmen in ihren Empfindlichkeitswerten und im Gipfel bei Grün (550 mμ) gut mit den subjektiven Helligkeitswerten des energiegleichen Spektrums überein, wie sie Jainski (1938) an helladaptierten Versuchspersonen mit Hilfe des

Flimmerphotometers ermittelt hat (Gipfel bei 565 mμ. Zit. bei Trendelenburg 1943). Nicht verständlich ist an den Kurven der Abb. 3 lediglich die etwas größere Empfindlichkeit bei blauen Lichtreizen gegenüber gelbem Prüflicht. In einigen orientierenden Versuchen habe ich an 4 Versuchspersonen die subjektive Helligkeit der 4 energiegleichen Farben durch Vergleich des farbigen mit dem weißen Halbfeld im Pulfrich-Photometer bestimmen lassen. Diese Messung der „Eindruckshelligkeit" (Kohlrausch 1923, v. Kries 1923) führt zwar

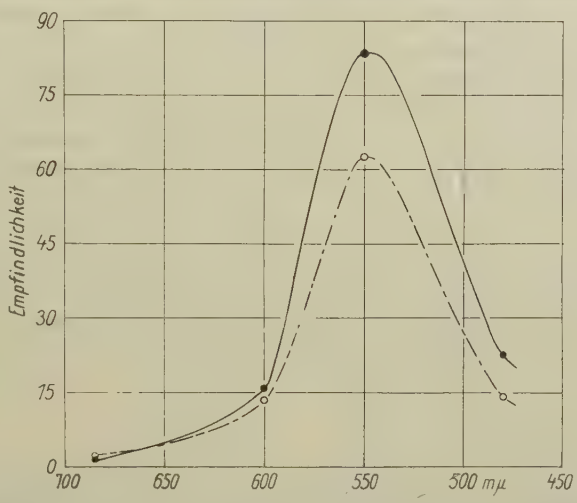


Abb. 3. Empfindlichkeit des mit γHCC vergifteten Frosches gegenüber energiegleichen Lichtern verschiedener Farbe. Abszissen: Wellenlänge in mμ. Ordinaten: Reziproke Werte der farbigen Lichtreize, die zu einer weißen Grundbeleuchtung von 6 Lux hinzukommen oder von der farbigen Gesamtbeleuchtung weggenommen werden mußten, um eine Zuckung auszulösen. Schwarze Punkte und ausgezogene Kurve: Lichtstöße. Weiße Punkte und punktierte Kurve: Lichtlücken.

nicht zu so zuverlässigen Werten wie das Flimmerverfahren, schien mir aber für orientierende Versuche ausreichend zu sein (ein Flimmerphotometer stand mir nicht zur Verfügung). Es zeigte sich, daß auch allen Versuchspersonen Blau etwas heller erschien als Gelb. Es ist möglich, daß hier technische Mängel bei der Einstellung der Energiegleichheit der Farbfilter mit Hilfe der Thermosäule die Ursache sind. Es erscheint mir aber bemerkenswert, daß man mit Hilfe des γHCC den Frosch „nach seiner spektralen Hellempfindlichkeit fragen" kann und dieselben Meßwerte erhält wie die, die man vom Menschen nach einer ganz anderen Methode bekommt.

B. Versuche an Fischen.

Die Fische wurden, wie auch in meinen früheren Versuchen (1950), in eine γHCC-Emulsion der Konzentration 10^{-5} gebracht. Die Fische wurden unruhig, schwammen bald auf der Seite und wurden gelegentlich

von schwachen Krampfstößen geschüttelt: sie wurden bald matt und gelähmt. In diesem Stadium war noch keine optische Reizbarkeit zu beobachten. Die Tiere wurden nun in frisches Wasser umgesetzt (10—20 min nach dem Einsetzen in die Giftemulsion), erholten sich etwas und schwammen bald auf der Seite, gelegentlich auch aufrecht umher. In diesem Stadium begannen die Fische auf Licht zu reagieren: auf plötzliches Einschalten des Lichtes machten sie heftige Schwimmbewegungen, bäumten sich auf, sprangen wohl auch aus dem Wasser, um dann bei gleichmäßiger Belichtung wieder ruhig, meist auf der Seite, im Wasser zu liegen und gelegentlich — spontan — kurze Schwimmbewegungen auszuführen. Wurde die Helligkeit herabgesetzt, so konnte man dasselbe beobachten. Oft kamen auf Lichtstoß und Lichtlücke hin nur kurze Zuckungen der ganzen Körpermuskulatur zustande, ähnlich wie bei den Fröschen. Die optische Reizbarkeit hielt bei den Fischen 10—30 Std. an. Sie war nicht so sicher zu registrieren wie bei den Fröschen, die ungereizt bewegungslos in Hockstellung saßen, während die Fische immer wieder spontane Schwimmbewegungen ausführten.

An 20 Karauschen und Gründlingen wurden Versuche mit weißem Licht mit den Ausgangs-Beleuchtungsstärken 1000, 200 und 30 Lux angestellt. Die Fische waren gegen das Wegnehmen von Licht etwas empfindlicher als gegen Lichtstoß. In Tab. 3 sind die Ergebnisse zusammengestellt worden.

Tabelle 3. *20 Karauschen und Gründlinge, mit γHCC vergiftet, 5—10 Std nach Vergiftungsbeginn untersucht.* Es sind die arithmetischen Mittel aller Messungen angegeben. J_{rel} gibt das vom Neutralfilter durchgelassene Licht an, wenn $J + \Delta J = 1$ gesetzt wird.

$J - \Delta J$ (Lux)	Lichtstoß				Lichtlücke			
	J_{rel}	J (Lux)	ΔJ (Lux)	$J/\Delta J$	J_{rel}	J (Lux)	ΔJ (Lux)	$J/\Delta J$
1000	0,34	340	660	0,52	0,43	430	570	0,75
200	0,16	32	168	0,19	0,25	50	150	0,33
30	0,11	3,3	26,7	0,12	0,15	4,5	25,5	0,18

Aus der Tab. 3 geht hervor, daß mit abnehmender Grund-Beleuchtungsstärke $J - \Delta J$ die Empfindlichkeit, ausgedrückt durch $J/\Delta J$ oder auch durch J_{rel}, abnimmt. In dem untersuchten Helligkeitsbereich gilt also das Webersche Gesetz nicht.

Während der Versuche schwammen die Fische frei im Glastrog (19 × 11 × 9 cm) umher, der Glastrog wurde von oben her mit Hilfe des um 45° geneigten Planspiegels beleuchtet. Die Fische waren also je nach ihrer Lage und ihrem Aufenthaltsort im Glastrog unterschiedlichen Beleuchtungsstärken ausgesetzt, sie wurden einmal beidäugig, das andere Mal (z. B. wenn sie am Boden auf der Seite lagen) einäugig optisch gereizt. Durch die Anzahl der Versuche und durch Mittelwertsbildung heben sich zwar die dadurch bedingten Abweichungen heraus, aber es wird doch noch nötig sein, genauere Messungen durchzuführen.

C. Versuche an Molchen.

Die Molche wurden in eine γHCC-Emulsion der Konzentration 10^{-5} gebracht. Nach einigen Stunden lagen die Tiere gelähmt da, wandten sich gelegentlich; der Umdrehreflex war noch auslösbar, er lief aber sehr langsam ab. Nach 3—5 Std. reagierten die meisten Tiere auf Licht, einige erst nach 20—30 Std. Sie wurden dann in reines Wasser gebracht. Die optische Reizbarkeit hielt im allgemeinen mehrere Tage an. Die Lichtreaktion ließ sich bei Molchen leichter als bei Fischen beobachten, weil die Molche gewöhnlich ruhig saßen. Auffällig war ein schnelles Umbiegen des Schwanzes auf Lichtreiz hin; die geringste, gerade noch beobachtbare Bewegung des Schwanzes wurde zur Schwellenbestimmung benutzt. Die Teichmolche waren Lichtstößen gegenüber empfindlicher als gegen das plötzliche Herabsetzen der Beleuchtung. In Tab. 4 ist eine Versuchsreihe mit weißem Licht wiedergegeben worden.

Tabelle 4. *10 Teichmolche, in eine γHCC-Emulsion der Konzentration 10^{-5} gesetzt und nach dem Auftreten der optischen Reizbarkeit (nach etwa 3 Std) in reines Leitungswasser gebracht.* Arithmetische Mittel der Messungen. J_{rel} gibt das vom Neutralfilter durchgelassene Licht an, wenn $J + \Delta J = 1$ gesetzt wird.

J + ΔJ (Lux)	Zeit (Std)	Lichtstoß				Lichtlücke			
		J_{rel}	J (Lux)	ΔJ (Lux)	J/ΔJ	J_{rel}	J (Lux)	ΔJ (Lux)	J/ΔJ
1000	6	0,54	540	460	1,18	0,35	350	650	0,54
	36	0,35	350	650	0,54	0,10	100	900	0,11
	120	0,21	210	790	0,27	0,03	30	970	0,03
200	6	0,50	100	100	1,00	0,38	76	124	0,61
	36	0,41	82	118	0,69	0,10	20	180	0,11
	120	0,12	24	176	0,14	0,02	4	196	0,02
30	6	0,37	11,1	18,9	0,59	0,24	7,2	22,8	0,32
	36	0,25	7,5	22,5	0,33	0,12	3,3	26,7	0,12
	120	0,06	1,8	28,2	0,06	0,02	0,6	29,4	0,02

Aus der Tab. 4 geht hervor, daß für mittlere Helligkeiten (1000 und 200 Lux) und auf der Höhe der optischen Reizbarkeit (um 6 bis 36 Std.) offenbar das Webersche Gesetz gilt. Bei einer Ausgangs-Beleuchtungsstärke von 30 Lux sind größere Lichtstöße und Lichtlücken nötig, um eine Zuckung hervorzubringen.

Es wurden auch Molche mit *farbigem* Licht gereizt. Dabei zeigte es sich, daß die Molche wie bei weißem Licht gegenüber Lichtstößen empfindlicher als gegenüber Lichtlücken waren. Bei Reizung mit energiegleichen Lichtern waren die Molche gegen *Grün* am empfindlichsten. Die geringste Empfindlichkeit hatten sie gegenüber rotem Licht. Für Blau waren sie ein wenig empfindlicher als für Gelb.

D. Versuche an Warmblütern.

Weiße Mäuse erhielten je 1—3 mg γHCC in öliger Lösung in die Bauchhöhle injiziert. Die Maus saß bei einer Raumbeleuchtung von 10 Lux in ihrem Glastrog und wurde beobachtet. Gelegentlich wurde geräuschlos eine Tischlampe eingeschaltet, die das Tier von oben her mit 1000 Lux beleuchtete. Die Maus saß etwa 40 min nach der Injektion des Giftes zusammengekrümmt im Glastrog. Bei 7 von 16 Tieren ließ sich in diesem Stadium der Vergiftung beim Einschalten der Tischlampe eine Zuckung beobachten. Bei wiederholtem Einschalten zuckten die Tiere mehrmals, einige bekamen Krämpfe. Eine Zuckung beim Ausschalten der Lampe wurde nur einmal beobachtet. Nach einigen Stunden starben die Tiere.

Weiße Ratten erhielten je 10 mg γHCC in öliger Lösung in die Bauchhöhle injiziert. Es wurden mit ihnen dieselben Versuche wie mit den Mäusen angestellt. Von 5 vergifteten Ratten reagierte eine auf Licht. Etwa 2 Std nach der Injektion des γHCC zuckte sie beim Einschalten des Lichtes. Diese optische Reizbarkeit hielt etwa 2 Std an. Auf das Ausschalten der Lampe reagierte sie nicht.

Es wurden auch einige Versuche an Meerschweinchen und syrischen Goldhamstern angestellt. Bei diesen Tieren konnte bisher keine optische Reizbarkeit festgestellt werden.

Zur Theorie der γHCC-Wirkung.

Es wurde hier vorausgesetzt, daß die Zuckungen und Krämpfe, die bei Belichtung oder beim Wegnehmen von Licht auftreten, in der Reizung der Netzhaut ihre auslösende Ursache haben. Daß das Licht über die Netzhaut einen Einfluß auf das motorische System hat, ist bekannt: es gibt optisch-motorische Reflexabläufe, es sei nur an den Pupillenreflex und an den Erscheinungskomplex, den man als „Lichttonus" bezeichnet, erinnert. Man könnte sich vorstellen, daß dieses optisch-motorische System durch γHCC in erhöhte Aktionsbereitschaft versetzt wird und daß vielleicht vorhandene, wohlkoordinierte Reflexabläufe übertrieben werden und sich unphysiologisch ausbreiten: man könnte dem γHCC eine „Strychninwirkung auf das optisch-motorische System" zuschreiben.

Um dieser Frage nachzugehen, wurden folgende Versuche angestellt: Schwarzes, lichtundurchlässiges Papier wurde einem vergifteten Frosch dicht vor die Augen gehalten, ohne daß das Papier die Augen oder den Kopf des Tieres berührte (um eine Reflexhemmung zu vermeiden!). Wurden jetzt Lichtreize dargeboten, die den Frosch mit Ausnahme der Augenpartie beleuchteten, so reagierte der Frosch nicht. Wurde bei eingeschaltetem Dauerlicht das schwarze Papier vor den Augen weggezogen, so zuckte der Frosch; desgleichen, wenn die Augen wieder

verdeckt wurden. Wurde bei Dauerlicht nur *ein* Auge durch Wegziehen des schwarzen Papiers freigegeben, während das andere verdeckt blieb, so zuckte der Frosch ebenfalls, und zwar mit *beiden* Körperseiten gleich stark, soweit sich das durch Beobachten feststellen läßt. Wurde das Auge wieder verdeckt, so zuckte der Frosch wieder mit allen vier Extremitäten, dem Augenschein nach gleich stark. Schließlich wurde nur ein Auge verdeckt und Licht eingeschaltet: der Frosch zuckte; wurde nun das zweite Auge ebenfalls freigegeben, so zuckte der Frosch abermals beidseitig; wurde ein Auge wieder verdeckt, dann zuckte das Tier nochmals beidseitig. Aus diesen Versuchen, die an mehreren Fröschen wiederholt wurden, geht hervor, daß der Reizempfänger die Netzhaut ist, und scheint mir hervorzugehen, daß sich die Erregung von *einem* Auge auf *beide* Körperseiten ausbreitet. Dies legt mir die Vermutung nahe, daß der Mechanismus der γHCC-Wirkung am ehesten mit dem der Strychninwirkung verglichen werden kann[1].

Die Befunde bei rhythmischer Reizung bedürfen noch einer kurzen Besprechung (vgl. Abb. 2). Während es bei einer Frequenz von 15 Lichtblitzen, d. h. 30 Reizen (Lichtstoß und Lichtlücke wirken als Reiz), in 10 sec nach dem 57. Lichtblitz = 114. Reiz zu einem Krampf kommt, hören bei einer Frequenz von 25 Lichtblitzen = 50 Reizen in 10 sec die Zuckungen allmählich auf, die Reize werden unwirksam. Man könnte dies so deuten: Jeder Reiz fällt in das relative Refraktärstadium des vorhergehenden und büßt an Wirksamkeit ein, bis die Wirkung schließlich ganz aufhört (Kurve *C*); haben die Reize einen größeren zeitlichen Abstand, dann fällt jeder Reiz in die übernormale Phase, die sich an das Refraktärstadium des vorhergehenden Reizes anschließt, die Wirksamkeit der Reize vergrößert sich dadurch, die Erregung „schaukelt sich auf", bis es zu einem Krampf kommt (Kurve *B*). Wegen der relativ niedrigen Frequenzen von *B* und *C* können hier wohl nur Vorgänge in den zentralnervösen Schaltstellen und Ganglienzellen im Spiele sein, nicht Vorgänge auf Nervenstrecken. Dazu kommt die Möglichkeit, daß das γHCC den Ablauf der Erregbarkeitsänderungen, also die Dauer der Refraktärzeit und der übernormalen Phase, verändern kann.

Es scheint, daß das γHCC ein Mittel ist, um Hemmungs-(Kurve C)- und Bahnungs-(Kurve B)-prozesse im Zentralnervensystem untersuchen zu können. Nimmt man hinzu, daß man mit Hilfe des Giftes auch physiologisch-optischen Fragen, z. B. denen des Farbensinnes, nachgehen kann, so scheint mir die Folgerung berechtigt, daß dem γHCC nicht nur eine toxikologische, sondern als methodischem Hilfsmittel auch eine physiologische Bedeutung zukommt.

Zusammenfassung,

Im Anschluß an frühere Untersuchungen wird über die Wirkung des γ-Hexachlorcyclohexans auf das optisch-motorische System einiger

[1] Weitere Erörterungen über den Angriffspunkt und den Wirkungsmechanismus des γHCC für seine optisch-motorische Wirksamkeit finden sich in meiner früheren Mitteilung (1952).

Kalt- und Warmblüter berichtet. Vergiftete Tiere reagieren auf Lichtreize mit Zuckungen und Krämpfen.

Messungen an Fröschen zeigten, daß die optische Reizbarkeit etwa 30 min nach der Injektion des Giftes begann, nach 24—48 Std ihren Höhepunkt hatte und im Laufe der nächsten Tage wieder abnahm. In einem mittleren Helligkeitsbereich (einige Hundert Lux) gilt bei Fröschen und Molchen offenbar das Webersche Gesetz $\left(\frac{\Delta J}{J} = \text{const}\right)$.

Bei der Reizung von Fröschen mit rhythmisch intermittierendem Licht kommt es in einem mittleren Frequenzbereich (15 Lichtblitze in 10 sec) zu Krämpfen (Bahnung, Summation), während die Wirkung bei höheren Frequenzen abklingt (Hemmung).

Bei der Reizung von Fröschen und Molchen mit energiegleichem farbigem Licht zeigte es sich, daß die Tiere gegen *Grün* am empfindlichsten sind.

Bei Fischen und bei weißen Mäusen ließ sich ebenfalls eine optische Reizbarkeit feststellen.

Die Befunde lassen erkennen, daß dem γHCC nicht nur eine toxikologische, sondern als methodischem Hilfsmittel auch eine physiologische Bedeutung zukommt.

Literatur.

Hoffmann, I., u. L. Lendle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 223 (1948). — Jainski, P.: Die spektrale Hellempfindlichkeit des menschlichen Auges und ihre Bedeutung für die Lichtmeßtechnik. Berlin: Union Deutsche Verl.-Ges. 1938. Diss. Techn. Hochsch. Berlin. — Kohlrausch, A.: Pflügers Arch. **200**, 210 (1923). — v. Kries, I.: Naturwiss. **11**, 461 (1923). — Schwarz, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 121 (1950); **216**, 358 (1952). — Trendelenburg, W.: Der Gesichtssinn. Berlin: Springer 1943.

Prof. Dr. med. Friedrich Schwarz, Jena, Botzstraße 4.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 207—216 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Budapest
(Direktor: Prof. Dr. B. Issekutz sen.).

Messung der Leitungs- und Infiltrationsanästhesie an Ratten mit einer neuen Methode.

Von
F. Herr, M. Nyiri und Gy. Pataky.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 15. Juli 1952.)

Die bisherigen Methoden zur Prüfung der Wirkung der Lokalanaesthetica (La) auf sensible Nervenfasern von Säugetieren (Biberfeld-Pototzky, Fromherz, Schmitz-Loevenhart) sind mit folgenden Nachteilen behaftet: 1. Die Tiere müssen narkotisiert werden, aber ohne Verlust der Rückenmarkreflexe. 2. Das Halten des auspräparierten Nerven bei entsprechender Temperatur und ohne Austrocknung bedarf großer Sorgfalt. 3. Da ein Tier nur ein einziges mal zur Messung verwendet werden kann, ist es nicht möglich, mehrere La am selben Tier zu vergleichen. Auch sind die experimentellen Bedingungen nicht identisch mit denen der praktischen Anwendung der La; die Wirkungsdauer ist nicht zu bestimmen, da keine normalen Resorptionsverhältnisse bestehen.

Daher messen Hamilton, Westfall u. Ferguson von den vielen ausgearbeiteten Verfahren zur Vergleichung der Wirkung der La nur die Oberflächen- und die Infiltrationsanästhesie, aber nicht die Leitungsanästhesie, weil kein Verfahren existiert, um diese an Säugetieren in verläßlicher Weise messen zu können. Auch Eichholtz vermißt den Nachweis, daß die an Kaltblütern gewonnenen Ergebnisse für Säugetiere gültig sind.

Die zur Untersuchung der Wirkung der Analgetica von D'Amour und Smith ausgearbeitete Methode beruht darauf, daß die Schwanzspitze der Ratte mit Wärme bestrahlt und dabei die bis zum Wegreißen des Schwanzes vergangene Zeit vor und nach Verabfolgung des Analgeticums gemessen wird. Auf Grund dieser Methode haben wir ein Verfahren ausgearbeitet, mit dem die leitungs- und infiltrationsanästhetische Wirkung an intakten Ratten leicht und schnell bestimmt werden kann.

Die erste Abbildung zeigt den Querschnitt des Rattenschwanzes. Wie ersichtlich, laufen im Schwanz zwei Paar Nervenstämme. Das ventrale Nervenpaar ist dicker, der Durchmesser beträgt ungefähr 0,5 mm. Beide Nervenpaare laufen — in Sehnenbündel eingebettet — im lockeren Bindegewebe.

Wir untersuchten, welches Nervenpaar die Schwanzspitze mit sensiblen Fasern versorge und fanden, daß nach isolierter Durchtrennung der oberen und unteren Nervenpaare das Wegreißen des Schwanzes in normaler Zeit erfolgt. Nach Durchtrennung aller vier Nerven bleibt aber das Wegreißen des Schwanzes bei der Wärmebestrahlung weg; demnach enthalten alle vier Nerven sensible Fasern, die von der Schwanzspitze ins Rückenmark laufen.

Diese Nerven enthalten aber auch motorische Fasern, da die Reizung des peripheren Nervenstumpfes eine Bewegung am Schwanz auslöst. Die Ratten sind imstande, auch nach Durchtrennung aller vier Nerven, wo sie schon keinen Schmerz spüren, ihren Schwanz zu bewegen, weil diese Bewegung von den über dem Ansatz

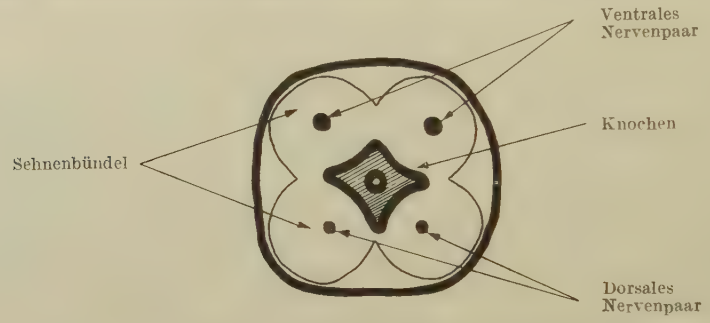


Abb. 1. Querschnitt des Rattenschwanzes, schematisch.

des Schwanzes liegenden Muskeln mit Hilfe der in ganzer Länge des Schwanzes hinziehenden Sehnen besorgt wird. Die in den vier Nervenstämmen laufenden motorischen Fasern innervieren wahrscheinlich nur die kleinen Muskeln, welche die komplizierteren Bewegungen des Schwanzes verrichten (S-förmige Verkrümmung).

Aus diesen Innervationsverhältnissen ergibt sich, daß Umspritzung der Nerven in einer Konzentration des La, bei der der Schwanz auf Bestrahlung nicht weggerissen wird, ausschließlich eine Blockade der *sensiblen* Fasern herbeiführt.

Wir spritzen mit einer Tuberkulinspritze in den Schwanz der festgehaltenen Ratte an der ventralen Seite, 2—3 cm vom Ansatz entfernt in proximaler Richtung 0,1 ml Lösung beiderseits in die Sehnenbündel ein. Die Nadel wird in den ventralen Nervenkanal eingeführt, von dem das dorsale Nervenpaar nur in 2—3 mm Entfernung liegt. Nach Durchstechen der Sehnen ist die Abnahme des Widerstandes mit der Nadel klar zu fühlen. Bei Injektion einer Farblösung machten wir die Erfahrung, daß die eingespritzte Lösung neben dem Nerven sowohl nach unten, als nach oben dringt und auch zum dorsalen Nervenpaar gelangt. Bei richtig ausgeführter Injektion ist unter dem Daumen der den Schwanz fixierenden Hand die Verbreitung der Lösung distalwärts im Kanal gut zu fühlen.

Bei der Prüfung der La verwandten wir aus je 5 Ratten bestehende Gruppen. Ihr Schwanzende wurde schwarz gefärbt und nach Eintrocknung der Farbe die Reaktionszeit der in eine Holzkiste eingesperrten Ratten gemessen.

Das Kistchen ist infolge seiner regulierbaren Größe für die Arbeit an kleinen und großen Ratten gleich geeignet. Es enthält in seiner Mitte eine Scheidewand, die mittels eines Knopfes nach vorne und hinten geschoben und fixiert werden kann. Die Ratte verhält sich darin ruhig, daher kann die Messung von einer einzigen Person ausgeführt werden, die mit der einen Hand den elektrischen Schalter, mit der anderen die Stoppuhr bedient.

Auf die Schwanzspitze der Ratte projizierten wir das mit einer Linse gesammelte Licht einer 500 W Glühlampe. An einer Stoppuhr lasen wir die Zeit ab, bei der die Ratte ihren Schwanz wegreißt oder mit ihm zuckt. Die normale Reaktionszeit schwankte bei den einzelnen Ratten zwischen 3 und 6 sec. Nach der Messung derselben wurde die zu untersuchende Lösung eingespritzt und dann nach je 5, 15 und 30 min die Reaktionszeit wieder gemessen. Als Wirkung wurde nur angesehen, wenn nach der Verabfolgung des La die Reaktionszeit den doppelten Mittelwert der Reaktionszeit aller fünf Ratten vor der Injektion erreichte. Kürzere Zeitverlängerungen haben wir nicht berücksichtigt, die oben erwähnte Zeit wurde aber als Maximalwert betrachtet und die Bestrahlung abgebrochen, weil die wiederholte Anwendung länger dauernden Wärmereizes Brandwunden am Schwanz erzeugt. Wir haben die Erfahrung gemacht, daß solche Tiere, die bis zum Ablauf der doppelten Reaktionszeit ihren Schwanz nicht wegreißen, zumeist auch später keine Schmerzreaktion zeigen. In diesen Fällen können wir vom völligen Aufhören der Reizleitung sprechen. Dieselben Ratten können auch zweimal wöchentlich verwendet werden, was uns in den Stand setzt, die zu vergleichenden La am selben Tier zu prüfen.

Vor allem war zu unterscheiden, ob nicht durch die Injektion der Lösung selbst die Reaktionszeit infolge der Nervenkompression verlängert würde. Zehn Ratten erhielten 0,1 ml physiologische Kochsalzlösung und zwanzig Ratten ebensoviel Tyrodelösung eingespritzt. Unterschied zwischen den zwei Gruppen zeigte sich nicht; eine mehr, weniger große Verlängerung der Reaktionszeit erfolgte in etwa 50 bis 60% der Ratten, aber die Maximalzeit erreichten nur zwei von den dreißig Ratten. Geringe Verlängerungen sind wohl mit einer gewissen Nervenkompression zu erklären. Bei jenen zwei Tieren, wo die Verlängerung maximal war, dauerte diese nur 10—15 min nach der Injektion; die Ratten äußerten Schmerz auf stärkeres Zusammendrücken des Schwanzes. Möglicherweise wurde bei diesen Ratten während der Injektion der Nerv verletzt und durch den heftigen Schmerz die Reizschwelle im Zentralnervensystem erhöht. Wenn wir aber den Nerven

mit 2% Novocain (in 0,5% Kochsalzlösung) umspritzten, so erreichten schon 5 min nach der Injektion alle Ratten die Maximalzeit (siehe Tab. 1).

D'Amour u. Smith arbeiteten ihre Bestrahlungsmethode zur Messung der Wirkung der Analgetica aus; somit ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß die gemessene Verlängerung der Reaktionszeit vielleicht der zentralen analgetischen Wirkung des verwandten Pharmakons zuzuschreiben sei. Diese Frage können wir dadurch entscheiden, daß wir die Wirkung des untersuchten Pharmakons an Kontrolltieren auch bei subcutaner Injektion an anderer Stelle messen. Tritt dann keine Verlängerung der Reaktionszeit ein, so ist mit Sicherheit anzunehmen, daß die Reizleitung aufgehoben ist. Unter den von uns untersuchten Pharmaka erzeugte keines eine Verlängerung der Reaktionszeit, wenn wir die Einspritzung nicht perineural, sondern unter die Rückenhaut machten.

Tabelle 1. *Prüfung der leitungsanästhetischen Wirkung der physiologischen Kochsalz-Lösung und des 2%igen Novocains.*

Nr.	Normale Reaktionszeit in sec	Perineurale Injektion	Reaktionszeit nach der Injektion sec 5 m	15 m	Bemerkung
1	3,6	phys. NaCl	5,0	4,4	
2	3,2	„	4,2	4,2	Mittelwert der normalen
3	4,2	„	7,2 <	3,6	Reaktionszeit 3,6
4	4,0	„	3,8	5,0	
5	3,0	„	3,2	4,0	
1	4,2	Novocain 2%	7,8 <	7,8 <	
2	3,6	„	7,8 <	7,8 <	Mittelwert der normalen
3	3,2	„	7,8 <	7,8 <	Reaktionszeit 3,9
4	3,4	„	7,8 <	7,8 <	
5	5,0	„	7,8 <	7,8 <	

Es besteht noch ein anderer Unterschied zwischen der zentralen analgetischen und der La-Wirkung. Wenn wir z. B. mit Morphin eine solche Verlängerung der Reaktionszeit hervorrufen, die wir als maximal ansehen, so bewirkt diese nicht das völlige Aufhören der Schmerzempfindung, sondern nur die Erhöhung der Reizschwelle im Zentralnervensystem. In diesem Fall kommt nämlich durch Steigerung des Schmerzreizes (längere Bestrahlung oder stärkeres Zusammendrücken des Schwanzes) eine Schmerzreaktion noch zustande. Wenn wir aber die Nerven mit La in wirksamer Konzentration umspritzen, so können wir durch die Steigerung des Schmerzreizes keine Schmerzreaktion auslösen und der Schwanz kann ohne irgendein Zeichen von Schmerzempfindung abgeschnitten werden.

Im Laufe unserer Versuche machten wir die Erfahrung, daß eine Differenz zwischen der Empfindlichkeit kleiner und großer Ratten besteht. An kleinen Ratten können die La vollständige Anästhesie in wesentlich geringerer Konzentration erzeugen, als an großen. So ist z. B. 0,75% Novocain bei 100—120 g schweren Ratten in 100% der Tiere wirksam, während an 300—350 g schweren Ratten die Wirkung nur bei 20—30% eintritt. Dies ist zum Teil damit zu erklären, daß der Nervenstamm größerer Ratten dicker ist, zum Teil wahrscheinlich damit, daß die La in der verabfolgten Konzentration zu den dorsalen

Nerven, die bei großen Ratten weiter entfernt liegen, nicht gelangen können. Demzufolge führten wir unsere Experimente immer an 150 bis 200 g schweren Ratten aus (diese mit Physostigmin aber an 300 g schweren Tieren).

In einigen Versuchen prüften wir die Frage, ob es nicht genüge, das La unter die Haut des Schwanzansatzes zu spritzen, ohne mit der Nadel in das Sehnenbündel zu stechen. Die Ergebnisse zeigten, daß bei der Injektion von 2% Novocain von 10 Ratten nur 2 die Maximalzeit 15 min nach der Injektion erreichten. Größere Konzentration (4%) erzeugt aber auch so eine Maximalwirkung 15 min nach der Injektion, aus dieser Konzentration vermag also das La in ausreichender Menge zu den Nerven zu diffundieren.

Das Verfahren ist nicht nur zur Messung der Leitungsanästhesie brauchbar; mit einer geringen Modifikation kann die Wirkung der La auch bei der Infiltration untersucht werden. Wir führten die Messung so aus, daß der Schwanz 3—4 cm von seinem Ende entfernt in 1 cm Dicke gürtelförmig schwarz gefärbt und die strahlende Wärme dorthin projiziert, worauf die normale Reaktionszeit bestimmt wurde, die gewöhnlich länger ist, als die am Schwanzende gemessene. Von dem zu prüfenden La spritzten wir subcutan 0,1 ml ins gefärbte Gebiet in der Weise, daß die Nadel von distal her eingestochen wurde. Wir injizierten das La deshalb subcutan, weil die Haut des Rattenschwanzes starr und für die intracutane Injektion ungeeignet ist. Die injizierte Lösung bildet eine die Haut vorwölbende Quaddel.

Mit den zwei Verfahren haben wir die Wirkungsstärke der verschiedenen La verglichen. In der Tab. 2 sind die mit der Leitungs-, in der Tab. 3 die mit der Infiltrationsmethode gewonnenen Resultate (15 min nach der Injektion) veranschaulicht. Wir prüften die leitungs- und infiltrationsanästhetische Wirkung von destilliertem Wasser, physiologischer, 1,8% Kochsalzlösung, isotonischem Phosphatpuffer vom p_H 5,4 und 8,0, Novocain, Cocain, Pantocain (Salz des Dimethylaminoäthylesters der p-Butylaminobenzoesäure), Nupercain (Salz des Diäthylamino-äthylamids der 2-Butoxycinchoninsäure), Convocain (Salz des Tropinesters der p-Aminobenzoesäure), Tutocain, Xylocain (Salz des 2,6-Xylidids der Diäthylaminoessigsäure), Atropin, Pyribenzamin, Veratrin und Physostigmin.

Weder physiologische, noch 1,8% Kochsalzlösung oder destilliertes Wasser beeinflußten wesentlich die Reizleitung. Die Pufferlösung vom p_H 8,0 verhielt sich ähnlich, wie die physiologische Kochsalzlösung, dagegen verlängerte die Pufferlösung vom p_H 5,4 fünf Minuten nach ihrer Verabfolgung die Reaktionszeit bei 50% der Ratten auf den maximalen Wert, diese Wirkung hörte aber schon nach 15 min völlig auf. Scheinbar gleicht der Organismus die p_H-Verschiebung schnell aus. Veratrin und Physostigmin wurden in physiologischem, die übrigen La in 0,5—0,7% Kochsalz gelöst.

In der Tabelle bedeutet der Zähler des Bruchs die Zahl der Ratten, bei denen vollständige nästhesie erzielt wurde, der Nenner die Gesamtzahl der verwandten Tiere. In der 15. Rubrik ist das Verhältnis der 100%ig wirkenden molaren Konzentrationen zueinander dargestellt, und zwar so, daß die Wirkungsstärke des Novocains als 1 angenommen wurde. Die wirksam gefundenen La-Konzentrationen sind höher als die, welche am Froschischiadicus-Präparat gerade noch eine Wirkung entfalten (Bennett, Fleckenstein), und in der Größenordnung stimmen sie mit jenen Konzentrationen überein, welche man in der ärztlichen Praxis bei Operationen zu verwenden pflegt. In der Wirkungsstärke der verschiedenen La bei Leitungsanästhesie beobachteten wir keine so großen Unterschiede wie frühere Autoren (Fussgänger, Gessner). Am stärksten fanden wir das Nupercain, dann folgten der Reihe nach Cocain und Pantocain. Diese La sind in der Reihenfolge 16mal, 7,2mal bzw. 6,4mal stärker als das Novocain. Xylocain erwies sich in unseren Versuchen 2,8mal und Pyribenzamin 1,6mal wirksamer. Die Wirkungsstärke des Atropins im Verhältnis zum Novocain beträgt 0,76, demnach verfügt auch dieses Mittel über eine ansehnliche lokalanästhetische Wirkung. Besondere Aufmerksamkeit verdienen die mit Veratrin und Physostigmin gewonnenen Resultate. Wir fanden nämlich, daß Veratrin 96mal, Physostigmin 74mal stärker ist als Novocain.

Hinsichtlich der Größenordnung hatten wir auch bei Messung der Infiltrationsanästhesie ähnliche Ergebnisse. Hier spielten aber die osmotischen Druckverhältnisse eine größere Rolle, als bei

Tabelle 2. *Vergleich der leitungsanästhetischen Wirkungsstärke der Lokalanaesthetica.*

	Prozentuale Konzentration												Wirkungsstärke	Konz. der 100%igen Wirkung in mMol	Wirkungsstärke auf Grund der Mol-Konz. der Base
	2	1,5	1	0,75	0,5	0,25	0,12	0,06	0,04	0,03	0,02	0,01			
Novocain . .	10/10	*10/10*	7/10	4/10	1/10								1	47,9	1
Atropin . . .	8/10[1]		4/10	0/10									0,5	63,0	0,76
Tutocain . .	10/10	*10/10*	6/10		0/10								1,0	52,4	1,1
Pyribenzamin	10/10		*10/10*	6/10	4/10								1,5	30,2	1,58
Convocain .			*10/10*	5/10	0/10								1,5	29,7	1,61
Xylocain . .			10/10		*10/10*	4/10							3,0	16,8	2,84
Pantocain . .					10/10	*10/10*	7/10						6,0	7,4	6,44
Cocain . . .					10/10	*10/10*	6/10						6,0	6,6	7,25
Nupercain . .						10/10	*10/10*	6/10					12,0	3,0	16,0
Physostigmin									*10/10*	4/10			37,5	0,7	73,6
Veratrin . .								10/10		*10/10*	7/10	1/10	50,0	0,5	95,8

[1] In 2,5% 10/10.

perineuraler Injektion (Rhode). Das destillierte Wasser und die 1,8% Kochsalzlösung verlängert die Reaktionszeit in 30% bzw. 40% der Ratten auf den maximalen Wert. Die p_H-Verschiebung beeinflußte weder in acidotischer noch in alkalischer Richtung die Reaktionszeit in wahrnehmbarer Weise. Die Mehrzahl der La wirkt subcutan schon in geringerer Konzentration, als nach perineuraler Injektion. Es ist aber auffallend,

Tabelle 3. *Vergleich der Lokalanaesthetica bei der Infiltrationsmethode.*

	Prozentuale Konzentration								Mol-Konz. der Base in mMol	Wirkungsstärke Novocain=1
	1,5	1	0,5	0,25	0,12	0,08	0,06	0,02		
Novocain . .		*5/5*	2/5						31,9	1
Atropin . . .	*9/10*	3/5							50,4	0,64
Pyribenzamin.		*5/5*	1/5						30,2	1,05
Convocain . .		*5/5*	3/5						29,7	1,07
Xylocain. . .			*5/5*	4/5					16,8	1,9
Tutocain . . .			*5/5*	2/5					15,3	2,08
Pantocain . .				5/5	*5/5*		3/5		3,7	8,6
Cocain				5/5	*5/5*		1/5		3,3	9,7
Nupercain . .					5/5		*5/5*	0/5	1,49	21,4
Veratrin . . .							5/5	*5/5*	0,34	94,0
Physostigmin .						0/10[1]	1/5		—	—

[1] 15—20 min nach der Injektion 10/10. Siehe den Text.

daß Physostigmin subcutan eingespritzt, nicht einmal in der doppelten der bei der Leitungsanästhesie wirksamen Konzentration (80 μg pro 0,1 ml) Anästhesie erzeugt. Zwar verlängert sich die Reaktion auch hier 10 bis 20 min nach der Injektion, dies dürfte aber in der Diffusion des Mittels in die tiefer liegenden Nervenstämme seine Ursache haben. Die übrigen La entfalten ihre Wirkung schon 2—3 min nach der Injektion.

Physostigmin hob also die Reizleitung in viel geringerer Konzentration auf, als die üblichen La, erzeugte aber keine lokale Anästhesie bei subcutaner (Quaddel-)Injektion. Zur Klärung führten wir Kontrolluntersuchungen mit der Infiltrationsmethode von Bülbring und Wajda am Meerschweinchenrücken aus und fanden, daß die Wirkung vom 0,2 ml 0,1% Physostigmin nicht stärker war, als die der zur Kontrolle verwandten physiologischen Kochsalzlösung. Dagegen konnte mit diesem Verfahren 0,25% Novocain schon gut nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse zeigen, daß das Physostigmin, abweichend von allen anderen La, die Reizleitung nur bei *direkter* Wirkung auf den Nervenstamm aufhebt.

Wir untersuchten auch die Wirkungsdauer der La. Diese schwankt bei der geringsten noch wirksamen Konzentration zwischen 60—90 min. Am längsten dauerte die Wirkung des Nupercains.

Es tauchte der Gedanke auf, ob die Wirkung der La, in öliger Lösung gegeben, nicht verlängert werden könnte. Wir machten aber die Erfahrung, daß die in Öl

gelöste und perineutral injizierte Pantocainbase zur Erreichung der 100%-Wirkung mindestens der doppelten Konzentration bedarf als das Salz in wäßriger Lösung; überdies wurde die Wirkungsdauer kürzer, statt zuzunehmen. Diese Ergebnisse bestätigten die am eigenen Leib ausgeführten Versuche von Kelly, in denen er fand, daß die Wirkungsdauer der La durch die ölige Lösung nicht verlängert wird.

Besprechung der Ergebnisse.

Mit unserem Verfahren zur Messung der Leitungsanästhesie kann bei Säugetieren die Wirkung der La auf sensible Nerven ohne jeden operativen Eingriff gemessen werden. Unsere Methode erleichtert auch den Vergleich der verschiedenen La, weil sie am selben Tier untersucht werden können. Die von uns angegebenen Konzentrationen rufen gewöhnlich schon 3—4 min nach der Injektion vollständige Anästhesie hervor. Ist die La-Konzentration so niedrig, daß sie innerhalb von 15 min keine Blockade erzeugt, dann ist anzunehmen, daß — ebenso wie bei ihrer therapeutischen Anwendung —, die Resorption der La und ihr Abbau in den Geweben die zur Wirkung notwendige Dauer der Berührung mit dem Nerven verhindert.

Wir fanden, daß Veratrin im Verhältnis zu den üblichen La auffallend stark wirkt; seine Wirkung ist nämlich schon in 96mal kleinerer Dosis ebenso stark als Novocain.

Fleckenstein teilt diejenigen Mittel, die einen Leitungsblock im Nerven verursachen, nach ihrem Wirkungsmechanismus in zwei große Gruppen: membranstabilisierende und membrandepolarisierende. Die La, die Antihistamine und das Atropin gehören in die erste Gruppe, Veratrin in die zweite. Der Unterschied zwischen den zwei Gruppen äußerte sich in unseren Versuchen in der Differenz der Wirkungsstärke. Die zur ersten Gruppe gehörenden Pharmaka bedürfen — um auf die Schwanznerven der Ratte zu wirken — einer höheren Konzentration als die, welche am Froschnerven gerade noch wirksam sind, dagegen entfaltete Veratrin schon in einem Drittel der am Froschnerven wirksamen Konzentration eine 100%ige Wirkung. Am Froschischiadicus erzeugt nämlich 0,1%iges Veratrin die Nervenblockade in 20—30 min.

Nach Nachmansohn entsteht die Reizleitung im Nerven durch Freiwerden von Acetylcholin (ACh). Das freigewordene ACh depolarisiert den Nerven, es wird aber durch Cholinesterase schnell abgebaut, wodurch die Polarisation der Nervenmembran hergestellt wird. Nachmansohn begründet diese Theorie unter anderem damit, daß das ACh, die Cholinesterase und Cholinacetylase in jedem Nerven vorhanden sind, ferner, daß die die Cholinesterase hemmenden Substanzen (Physostigmin, Di-isopropyl-fluorophosphat) die Reizleitung des Nerven aufheben, und zwar dadurch, daß sie, dem Abbau des ACh entgegenwirkend, die Herstellung der Nervenmembran verhindern. Nach Feldberg ist aber diese Hypothese nicht haltbar, da das Physostigmin in Nachmansohns Versuchen die Reizleitung nur in sehr hoher Konzentration aufgehoben hat. Dagegen scheinen unsere Versuche, in denen die Reizleitung schon durch 40 μg Physostigmin vollständig aufgehoben wurde, die Theorie Nachmansohns zu stützen. Weitere Untersuchungen, die mit dieser Frage in Verbindung stehen, sind im Gange.

Bei der Infiltrationsmethode spritzen wir das La unter die Haut, da der Rattenschwanz für intracutane Injektion ungeeignet ist. Die

Wirkung der verschiedenen La läßt sich mit unserer Methode gut vergleichen, man kann aber mit ihr nur größere Konzentrationen nachweisen, als mit der intracutanen Methode von Bülbring und Wajda oder mit der Messung am menschlichen Unterarm. Dagegen besitzt unsere Methode den Vorteil, daß ihre Ausführung schneller und einfacher ist.

Physostigmin verhindert die Reizleitung schon in 0,04%iger Lösung, intracutan erzeugte es aber auch in doppelter Konzentration keine Anästhesie. Greig u. Mitarb. sowie Kaesling u. Mitarb. fanden, daß das Physostigmin an der Hornhaut des Kaninchens keine lokalanästhetische Wirkung entfaltet. Der Nervenstamm ist von einer Markscheide umgeben, die schmerzempfindenden Endapparate bestehen dagegen aus marklosen Nervenfasern. In den mit Markscheide versehenen Fasern schreitet die Reizleitung saltatorisch vorwärts (Blair; Tasaki), und es ist möglich, daß das Physostigmin auf diesen Prozeß eine Hemmwirkung entfaltet. Mit dieser Annahme wäre der Unterschied zwischen den zweierlei Wirkungen des Physostigmins zu erklären.

Die leitungsanästhetische Wirkung der La können wir auch ohne eine Wärmestrahlungsvorrichtung mit annähernder Genauigkeit messen. Das Zusammendrücken und das Quetschen des Schwanzendes der Ratte zwischen zwei Fingern verursacht einen heftigen Schmerz, den die Ratte mit Quietschen und Fluchtbewegungen äußert. Nach dem völligen Aufhören der Reizleitung duldet die Ratte des Quetschen ihres Schwanzendes ohne die geringste Schmerzäußerung. Auf diese Weise ist diejenige geringste Konzentration der La ausfindig zu machen, welche die Reizleitung aufhebt. Dieses Verfahren wird vervollkommnet und seine Ausführung erleichtert, wenn wir das Versuchstier mit 80 mg/kg Luminal betäuben (Tullar). Dann kann man mit der Ratte leichter hantieren, sie bewegt sich nicht spontan, und die genannte Luminaldosis beeinflußt nicht das durch den Schmerz ausgelöste Quietschen oder die Fluchtbewegungen. In einigen Versuchen führten wir die Messung der lokalanästhetischen Wirkung auch in dieser Weise aus, und die Ergebnissen stimmten unter geringer Abweichung mit denen überein, die wir bei Anwendung der Wärmestrahlung erhielten.

Bei Messung der Wirkung analgetischer Mittel müssen wir bestrebt sein, den Schmerzreiz genau zu dosieren. Die Größe der Schmerzstillung wird in Graden ausgedrückt (20-, 30-, 60%ige Schmerzstillung). Für die Messung der Leitungsanästhesie ist die Dosierbarkeit des Reizes keine unerlässliche Bedingung und im Leitungsblock gibt es keine Abstufungen, da die Reizleitung im einzelnen Nervenfaden dem „Alles-oder-nichts"-Gesetz folgt. Für die Reizung des Nervenstammes ist dagegen das „Alles-oder-nichts"-Gesetz nicht gültig, da bei der Anwendung stärkeren Stromes mehrere Nerven in Reizzustand geraten. Reizen wir aber den Nerven vom Endapparat her — wie auch in unserem Fall — so folgt er dem erwähnten Gesetz.

Zusammenfassung.

Es wurde ein einfaches, genaues und schnell ausführbares Verfahren zur Messung der Wirkung der Lokalanaesthetica am Rattenschwanz und in Quaddeln beschrieben. Die Messung der Leitungsanästhesie geschieht durch Schmerzerzeugung am Schwanzende der Ratte (mit strahlender Wärme oder Druck) und Beobachtung der Schmerzreaktion. Nachher wird am Ansatz des Schwanzes beiderseits neben die Nerven 0,1 ml Lokalanaestheticum injiziert. Bei guter Wirkung kann nach der Injektion eine Schmerzreaktion vom Schwanzende her nicht ausgelöst werden. Bei der Infiltrationsmethode wird das Lokalanaestheticum dem bestrahlten Gebiet subcutan verabfolgt.

Es wurden vergleichende Untersuchungen ausgeführt bezüglich der Wirkungsstärke von Novocain, Cocain, Pantocain, Nupercain, Convocain, Tutocain, Xylocain, Atropin, Pyribenzamin, Veratrin und Physostigmin.

Als stärkstes unter den üblichen Lokalanaestheticis hat sich Nupercain erwiesen, das in der Leitungsanästhesie 16mal, in der Quaddel 21mal stärker wirkt als Novocain. Bei der Leitungsanästhesie sind aber Physostigmin und Veratrin noch stärker wirksam als Nupercain. Das erstere wirkt 74mal, das zweite 96mal stärker als Novocain.

Veratrin wirkt auch bei der Infiltrationsmethode am allerstärksten, wogegen Physostigmin keine Infiltrationsanästhesie erzeugt, auch nicht in höherer Dosierung.

Literatur.

Bennett, A. L., and K. G. Chinburg: J. of Pharmacol. **88**, 72 (1946). — Blair, R. H., and J. Erlanger: Amer. J. Physiol. **126**, 97 (1939). — Bülbring, E., and I. Wajda: J. of Pharmacol. **85**, 78 (1945). — d'Amour, F. E., and D. L. Smith: J. of Pharmacol. **80**, 176 (1944). — Eichholtz, F.: Klin. Wschr. **28**, 761 (1950). — Feldberg, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 64 (1951). — Fleckenstein, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 416 u. 54 (1951). — Fromherz, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **76**, 257 (1914). — Fussgänger, R., u. O. Schaumann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **160**, 53 (1931). — Gessner, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **168**, 569 (1932). — Greig, M. E., W. C. Holland and P. E. Lindvig: Brit. J. Pharmacol. **5**, 461 (1950). — Hamilton, H. S., B. A. Westfall and J. K. W. Ferguson: J. of Pharmacol. **94**, 299 (1948). — Keasling, H. H., R. M. Featherstone, F. W. Schueller and E. G. Gross: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **77**, 31 (1951). — Kelly, M.: Lancet **1947**, 710. — Kochs, W.: Zbl. klin. Med. **1886**, 793. — Labonda: Comt. rend. de la Soc. de Biol. **1884**, 753. — Charpentier: Comt. rend. de la Soc. de Biol. **1884**, 759; zit. nach Poulsson, E.: Hdb. exper. Pharm. Heffter II/1, 103 (1920). — Laubender, W.: Hdb. exper. Pharm. Heffter-Heubner VIII Erg.-Bd. 1 (1939). — Nachmansohn, D.: Bull. Hopkins Hosp. **83**, 463 (1948), Modern Trends. In: Physiol. a. Biochem. New York: Academic Press 1952. — Pototzky, C.: Arch. internat. Pharmacodynamie **12**, 129 (1903). — Rhode, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **91**, 173 (1921). — Schmitz, H. L., and A. S. Loevenhart: J. of Pharmacol. **24**, 167 (1925). — Tasaki, I., u. T. Takeuchi: Pflügers Arch. **245**, 764 (1942). — Tullar, P. E.: Federat. Proc. **10**, 341 (1951).

Dr. F. Herr, Budapest VIII, Üllöi u 26, Pharmakologisches Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 217—224 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz
(Direktor: Professor Dr. G. Kuschinsky).

Über die Wirkungen neuromuskulär blockierender Substanzen auf den Rückenmuskel des Blutegels und den M. rectus abd. des Frosches.

Von
Heinz Lüllmann und Werner Förster.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juli 1952.)

Einleitung.

Es werden drei Möglichkeiten der neuromuskulären Blockierung unterschieden ([1, 2]): 1. Stabilisierung des Membranpotentials, „Curare-Typ", 2. Depolarisierung der Muskelmembran, „C 10-Typ" und 3. Verhinderung der Acetylcholin-(ACH)-Synthese, Botulinustoxin. Ausgedehnte Untersuchungen von Ginzel, Klupp und Werner[3, 4, 5, 6, 7] haben den Kreis der Substanzen, die der ersten und zweiten Gruppe zuzuordnen sind, erweitert. Mit ihrem Differenzierungsverfahren an Säugetier- und Taubenmuskulatur untersuchten diese Verfasser eine Reihe von Estern zwischen Trialkyläthanolammoniumbasen und Dicarbonsäuren. Dabei erwies sich unter anderem der Bernsteinsäure-di-cholinester (SCH) dem C 10-Typ zugehörig. Aus dem Wirkungsmechanismus der beiden Substanzgruppen ergibt sich ohne weiteres ein Antagonismus, wie es sowohl aus der Therapie der Curare- und Decamethoniumjodid (C 10)-Vergiftungen als auch aus Versuchen an isolierten Organen bekannt ist.

Wir beobachteten eine Durchbrechung der eben gegebenen Einteilung, indem wir am Rückenmuskel des Blutegels einen Synergismus zwischen d-Tubocurarin (dTc) einerseits und SCH und C 10 andererseits feststellen konnten. In der vorliegenden Arbeit werden Kombinationen zwischen und innerhalb der beiden neuromuskulär blockierenden Substanz-Gruppen in ihrer gegenseitigen Beeinflussung am Rückenmuskel des Blutegels und am M. rectus abd. des Frosches untersucht. Außerdem unternehmen wir den Versuch, die Bedeutung der Cholinesterase bei dem Synergismus zwischen SCH und dTc zu klären.

Methodik.

Die Behandlung der isolierten Organe fand in der üblichen Weise statt. Das Phrenicus-Zwerchfell-Präparat der Ratte wurde in der Anordnung nach Bülbring[8] benutzt. Der Aufbau der Versuche mit den isolierten Organen des Blutegels und des

Frosches nach statistischen Gesichtspunkten und die statistische Auswertung der gewonnenen Resultate erfolgte in derselben Weise, wie es kürzlich von uns angegeben wurde[9]. Die Experimente wurden in den Monaten Juni bis März durchgeführt, die Mm. recti stammten sowohl von Ranae esculentae wie R. temporariae. Die Cholinesterase-Aktivität wurde manometrisch mittels Warburg-Apparatur gemessen. Als Substrat diente Succinyl-di-cholinchlorid* in 0,01 m Verdünnung.

Versuchsergebnisse.

A. Isolierte Organe.

I. SCH und dTc.

a) Rückenmuskel des Blutegels. Die SCH-Dosen, die notwendig waren, um eine mittelgroße Kontraktion des Muskels zu verursachen, lagen zwischen $1:2{,}5 \cdot 10^3$ und $1:2 \cdot 10^5$. Die dTc-Konzentrationen wurden zwischen $1:3 \cdot 10^4$ und $1:10^6$ variiert. In etwa der Hälfte der Fälle zeigte dTc einen fördernden Einfluß auf die SCH-Kontraktionen (Abb. 1a). Die Aufschlüsselung nach der absoluten und relativen dTc-Dosis, wie es in Tab. 1 dargestellt ist, ergibt eine deutliche Abhängigkeit von dem Ausmaß der Curarisierung. Je stärker diese ist, um so

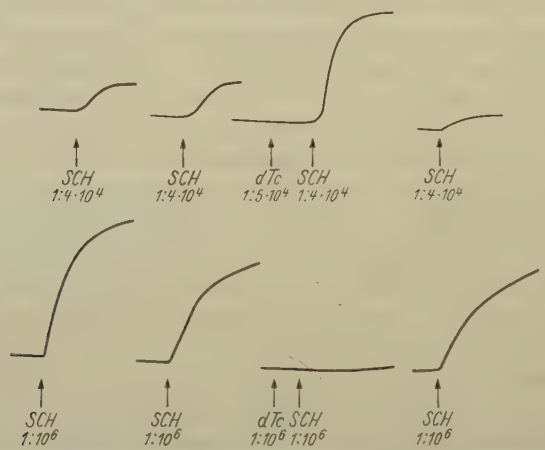


Abb. 1. Beeinflussung der Succinylcholin-Kontraktionen durch d-Tubocurarin.
a obere Kurve: Rückenmuskel des Blutegels, *b* untere Kurve: M. rectus abd. des Frosches.
SCH = Succinyldicholin, *dTc* = d-Tubocurarin.

größer ist die Wahrscheinlichkeit, eine Verstärkung der SCH-Effekte zu erhalten. dTc zeigte in höheren Konzentrationen ($1:10^4$ und mehr) eine „Eigenwirkung", es löste durch Spülen reversible Kontraktionen aus.

* Wir danken der Firma E. Merck, Darmstadt, für das Succinylcholin, den Asta-Werken, Brackwede, für das Curarin-Asta, den Cassella-Farbwerken, Frankfurt, für das Dekamethoniumjodid und der Deutschen Hoffmann-La Roche A. G., Grenzach, für das Acetylcholin.

b) M. rectus abd. des Frosches. Die SCH-Ansprechbarkeit dieses Organes lag zwischen $1:10^6$ und $1:10^7$, sie glich der ACH-Empfindlichkeit, wenn molare Konzentrationen zu Grunde gelegt wurden. dTc in Verdünnungen, die sich wie 1:5 und 1:1 zum SCH verhielten, führte zu einer starken Abschwächung bzw. Aufhebung der SCH-Effekte (Abb. 1b). Selbst in höchsten Dosen führte dTc am M. rectus niemals zu einer Kontraktion.

Tabelle 1.

dTc-Dosis	Durch dTc verstärkte SCH-Effekte in % der Zahl der Versuche/Dosis
$1:10^6$ . . .	0
$1:5\cdot 10^5$ . .	0
$1:2\cdot 10^5$ . .	25
$1:10^5$ . . .	39
$1:5\cdot 10^4$ . .	53
$1:3\cdot 10^4$ . .	75
Dosenverhältnis SCH zu dTc	
20:1 — 5:1	8
2,5:1 — 1:1	57
1:1,6 — 1:3	66

2. ACH und dTc.

a) Rückenmuskel des Blutegels. Da am nicht eserinisierten Muskel gearbeitet wurde, waren ACH-Dosen zwischen $1:5\cdot 10^3$ und $1:5\cdot 10^4$ notwendig, um entsprechende Kontraktionen zu erhalten. dTc bedingte bereits eine Abschwächung der ACH-Effekte in einem Verhältnis zum ACH wie 1:10. Die untersuchten Dosenrelationen zwischen dTc und ACH schwankten von 1:10 bis 3:5, es ergab sich jeweils eine Hemmung der Kontraktion.

b) M. rectus abd. des Frosches. Auch am Froschmuskel verursachte dTc eine Hemmung des ACH. Die ACH-Konzentrationen lagen zwischen $1:10^6$ und $1:10^7$, diejenigen von dTc bewegten sich in denselben Grenzen.

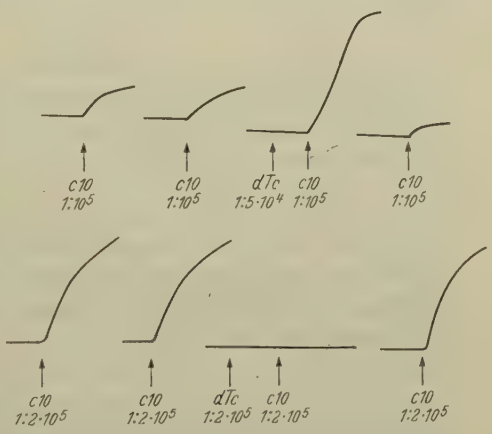


Abb. 2. Beeinflussung der C 10-Kontraktionen durch d-Tubocurarin. *a*) obere Kurve: Rückenmuskel des Blutegels, *b*) untere Kurve: M. rectus abd. des Frosches. *C 10* = Dekamethoniumjodid. *dTc* = d-Tubocurarin.

3. C 10 und dTc.

a) Rückenmuskel des Blutegels. In Konzentrationen zwischen $1:5\cdot 10^4$ und $1:5\cdot 10^5$ ruft C 10 Verkürzungen des Muskels hervor. Diese erfahren durch dTc eine Verstärkung (Abb. 2a), über deren Dosisabhängigkeit die Tab. 2 informiert.

b) M. rectus abd. des Frosches. Ebenso wie der Rückenmuskel des Blutegels kontrahierte sich der M. rectus auf C 10 ($1:10^5$—$1:10^6$). dTc im Mengenverhältnis zum C 10 wie 1:10—10:1 hemmte die C 10-Effekte (Abb. 2b).

Tabelle 2.

Dosenverhältnis C 10 zu dTc	Durch dTc verstärkte C 10-Effekte in % der Zahl von Versuchen/Dosis
10:1 — 2,5:1	0
1:1	13
1:2	30
1:4 — 1:5 .	83
1:10 u. mehr	95

4. ACH und C 10.

a) Rückenmuskel des Blutegels. Bei Kombination von ACH ($1:2 \cdot 10^4$ bis $1:10^5$) mit C 10 ($1:10^6$) ergibt sich eine Verstärkung der ACH-Kontraktionen.

b) M. rectus abd. des Frosches. Auch am Froschmuskel ließ sich eine Förderung der ACH-Effekte ($1:10^7$—$1:2 \cdot 10^7$) durch C 10 zeigen, falls dieses in 5- bis 20facher Dosis dem Bade zugesetzt wurde. Größere Verdünnungen von C 10 waren nicht mehr in dem angegebenen Sinne wirksam.

5. SCH und C 10.

Bei dieser Kombination zweier Substanzen vom C 10-Typ am M. rectus konnte eine Vergrößerung der SCH-Kontraktionen ($1:10^6$ bis $1:5 \cdot 10^6$) durch „unterschwellige" C 10-Dosen ($1:10^6$—$1:5 \cdot 10^6$) konstatiert werden.

6. ACH und SCH.

Bei Paarung der beiden Cholinester am M. rectus zeigte sich eine Verstärkung der ACH-Effekte ($1:10^7$—$1:2 \cdot 10^7$) durch selbst unwirksame Konzentrationen von SCH.

B. Fermentansätze.

Folgende Fermentpräparate wurden untersucht: Pseudoesterase des Menschen- und Pferdeserums, echte Cholinesterase aus menschlichen Erythrocyten, aus Kaninchenhirn und aus der Blutegelmuskulatur. Das Substrat SCH (0,01 m Endkonzentration) wurde von der Pferdeserum-, Kaninchenhirn- und Egelesterase in keinem Fall verseift, dagegen zeigten Ansätze mit Menschenserum- und Erythrocytenesterase eine Spaltung, die etwas über die Spontanhydrolyse hinausging. Dieser

Abbau des Esters fand in einem solchen Ausmaß statt, daß eine statistische Sicherung der Ergebnisse nur für die Serumesterase[10] ermöglicht wurde.

Tabelle 3.

Agonist	Synergist bzw. Antagonist	Anzahl der Vorversuche	Anzahl der Kombi.-Eff.	Art der Wirkung	Statist. Sicherung	Bemerkungen
Blutegel						
SCH	dTc	179	26	↑	$P < 0{,}001$	Dos. Abhängigk. s. Tab. 1
			28	⌀	$P > 0{,}05$	
ACH	dTc	53	20	↓	$P < 0{,}001$	
C 10	dTc	163	35	↑	$P < 0{,}001$	Dos. Abhängigk. s. Tab. 2
			35	⌀	$P > 0{,}05$	
ACH	C 10	49	22	↑	$P = 0{,}001$	
M. rectus abd.						
SCH	dTc	80	26	↓	$P < 0{,}001$	
ACH	dTc	88	18	↓	$P < 0{,}001$	
C 10	dTc	125	36	↓	$P < 0{,}001$	
ACH	C 10	65	14	↑	$P < 0{,}001$	Dos. Abhängigk. s. Text
			11	⌀	$P > 0{,}05$	
SCH	C 10	65	16	↑	$P < 0{,}001$	
ACH	SCH	26	13	↑	$P < 0{,}01$	

↑ Verstärkung; ↓ Hemmung bzw. Aufhebung; ⌀ keine Beeinflussung.

C. Phrenicus-Zwerchfell-Präparat der Ratte.

Um eine angedeutete Erschwerung der neuromuskulären Überleitung mit ACH zu erzwingen, bedurfte es in unseren Versuchen Konzentrationen um $1:5 \cdot 10^3$. SCH erwies sich als 100fach stärker wirksam, die benötigten Dosen, die zu vergleichbarer Verschlechterung der Überleitung führten, lagen also um $1:5 \cdot 10^5$. Wurde vor den ACH- und SCH-Gaben jeweils Eserin oder Prostigmin ($1:10^7$—$1:10^8$) dem Bade zugefügt, so wurde der ACH-Effekt um ein Vielfaches verstärkt, es trat ein sofortiger neuromuskulärer Block auf, während die SCH-Wirkung von den Cholinesterasehemmstoffen unbeeinflußt blieb.

Diskussion.

Die pharmakologischen Befunde, die zur Aufstellung der zwei Gruppen von neuromuskulär blockierenden Verbindungen geführt hatten, können am M. rectus abd. des Frosches einfach demonstriert

werden: 1. dTc bedingt in keiner Konzentration eine Verkürzung des Muskels, 2. dTc hemmt die ACH-, SCH- und C 10-Kontraktionen, 3. die Substanzen der C 10-Gruppe verstärken sich gegenseitig, nämlich C 10 das ACH und SCH, SCH das ACH. Nimmt man die elektrophysiologischen Befunde hinzu, wie sie von Eccles[11] und Kuffler[12] für die Curare-, von Kuffler[13, 14] für die ACH- und von Paton und Zaimis[15, 16, 17, 18, 19, 20] für die C 10-Wirkung erhoben wurden, so ergibt sich das für die Einteilung der neuromuskulär blockierenden Substanzen übliche Prinzip: Auf der einen Seite mit seinem stabilisierenden Einfluß auf das Zellmembranpotential das dTc, welches somit auch keine Verkürzung auslösen kann, auf der anderen Seite die Substanzen, deren gemeinsame Wirkung die Depolarisation der Membran und damit die Muskelkontraktion ist: ACH, C 10 und SCH.

An der Blutegelmuskulatur konnten wir nun mit denselben Substanzen folgende Befunde erheben: 1. dTc besitzt eine kontraktionsauslösende Eigenwirkung, 2. dTc hemmt die ACH-Kontraktion, 3. dTc verstärkt die SCH- und C 10-Effekte und 4. ACH und C 10 verstärken sich gegenseitig. Diese experimentellen Ergebnisse lassen sich, soweit wir die Materie überblicken können, nicht widerspruchsfrei in das angegebene Schema einordnen. Auch die Annahme, dTc hätte depolarisierende Eigenschaften (entsprechend Punkt 1. und 3.), stünde im Gegensatz zu Punkt 2. und 4.

Eine eventuelle Deutungsmöglichkeit für den Synergismus zwischen SCH und dTc sahen wir in der Wirksamkeit der Cholinesterase, zumal die Anticholinesterase-Eigenschaft des Curare bekannt ist [21, 22, 23]. Die fermentative Hydrolyse des SCH durch die Esterase kann aber kein wesentliches Ausmaß annehmen, wie aus unseren Experimenten hervorgeht: 1. Die SCH-Schwellendosis der Blutegelmuskulatur wird durch Eserin im Gegensatz zur ACH-Schwellendosis nicht verändert, 2. am Phrenicus-Zwerchfell-Präparat verstärken Eserin und Prostigmin die SCH-Wirkung auf die neuromuskuläre Übertragung nicht, dies ist dagegen beim ACH der Fall, 3. die untersuchten Esterasepräparate spalten SCH gar nicht oder sehr schwach. Dieses Ergebnis deckt sich weitgehend mit den in der Literatur mitgeteilten Befunden[24, 25, 26, 27]. Somit kann der Cholinesterase bei der Entstehung der „paradoxen" Curare-Wirkung keine Bedeutung zukommen.

Die Tatsache eines Synergismus zwischen dTc und C 10 bzw. SCH bei erhaltenem Antagonismus zwischen dTc und ACH am Blutegelmuskel ohne eine Möglichkeit einer sinnvollen Einordnung in bekannte Zusammenhänge bleibt bestehen. Erinnert sei an die ungewöhnliche Wirkung, die dTc an chronisch denervierten Muskeln ausübt, wie es von McIntyre et. al.[28, 29] und Jarcho et al.[3] beobachtet wurde. Es

sind damit eine Reihe von Befunden vorhanden, die die Ausschließlichkeit des dem oben angeführten Schema zu Grunde liegenden Wirkungsmechanismus zweifelhaft erscheinen lassen.

Zusammenfassung.

Über Versuche mit neuromuskulär blockierenden Substanzen (d-Tubocurarin, Dekamethoniumjodid, Acetylcholin und Succinyldicholin) an isolierten Organen wird berichtet. Während am M. rectus abd. des Frosches Befunde erhoben werden können, die dem Einteilungsprinzip, das auf dem Wirkungsmechanismus der blockierenden Verbindungen beruht, entsprechen, lassen sich die am Rückenmuskel des Blutegels gewonnenen Ergebnisse nicht widerspruchsfrei einordnen:

1. M. rectus abd. des Frosches: d-Tubocurarin löst keine Kontraktion aus, d-Tubocurarin hemmt die Acetylcholin-, Succinyldicholin- und Decamethonium-Kontraktionen; Acetylcholin, Succinyldicholin und Dekamethonium verstärken sich gegenseitig.

2. Rückenmuskel des Blutegels: Tubocurarin löst Kontraktionen aus, Tubocurarin verstärkt die Succinyldicholin- und Dekamethonium-Kontraktionen, Tubocurarin hemmt die Acetylcholin-Kontraktionen, Dekamethonium verstärkt Acetylcholin-Kontraktionen.

Am Blutegelmuskel besteht also ein Synergismus zwischen d-Tubocurarin und Dekamethonium bzw. Succinyldicholin bei erhaltenem Antagonismus zwischen d-Tubocurarin und Acetylcholin. Wie Versuche mittels Warburg-Apparatur und Phrenicus-Zwerchfell-Präparat ergeben, kann die Cholinesterase bei der Auslösung der „paradoxen" Curare-Wirkung nicht wesentlich beteiligt sein.

Die Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Literatur.

[1] Zusammenfassung bei Feldberg, W.: Brit. Med. J. **1951**, 4713. — [2] Zusammenfassung bei Riesser, O.: Muskelpharmakologie, Bern, H. H ber 1949. — [3] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Arch. internat. Pharmacodynamie **86**, 385 (1951). — [4] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Arch. internat. Pharmacodynamie **87**, 79 (1951). — [5] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Arch. internat. Pharmacodynamie **87**, 351 (1952). — [6] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Experientia **7**, 387 (1951). — [7] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 453 (1951). — [8] Bülbring, E.: Brit. J. of Pharmacol. **1**, 38 (1946). — [9] Lüllmann, H., W. Förster u. E. Westermann: Arch exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 8 (1952). — [10] Snedecor: Statistical Methods, 4. Aufl., Iowa-Press, Iowa. — [11] Eccles, J. C., B. Katz u. S. W. Kuffler: J. of Neurophysiol. **4**, 362 (1941). — [12] Kuffler, S. W.: J. of Neurophysiol. **5**, 18 (1942). — [13] Kuffler, S. W.: Neurophysiol. **6**, 99 (1943). — [14] Kuffler, S. W.: J. of Neurophysiol. **9**, 367 (1946). — [15] Paton, W. D. M., u. E. Zaimis: J. of Physiol. **108**, 55 P (1949). — [16] Zaimis, E.: J. of Physiol. **110**, 10 P (1949). — [17] Paton, W. D. M., u. Zaimis, E.: Brit. J. of Pharmacol. **4**, 381 (1949). — [18] Zaimis, E.: J. of

Physiol. **112**, 176 (1951). — [19] Paton, W. D. M., u. E. Zaimis: J. of Physiol. **112**, 311 (1951). — [20] Burns, B. D., u. W. D. M. Paton: J. of Physiol. **115**, 41 (1951). — [21] Fegler, J., u. H. Kowarzyk: C. r. Soc. Biol. Paris **127**, 1149 (1938). — [22] Harris, M. M., u. R. S. Harris: Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. **46**, 619 (1941). — [23] Harris, M. M., u. R. S. Harris: Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. **56**, 223 (1944). — [24] Glick, D.: J. of Biol. Chem. **137**, 357 (1941). — [25] Löw, H., u. L. E. Tammerlin: Acta physiol. scand. **23**, 78 (1951). — [26] Bovet, D., et al.: Estratto dai rendiconti dell'inst. sup. di Roma **12**, 106 (1949). — [27] Whittacker, V. D.: Experientia **7**, 217 (1951). [28] McIntyre, A. R., u. R. E. King: Science **97**, 69 (1943). — [29] McIntyre, A. R., R. E. King u. A. L. Dunn: J. of Neurophysiol. **8**, 297 (1945). — [30] Jarcho, L. W., C. Eyzaguirre, S. A. Talbot u. J. L. Lilienthal: Amer. J. of Physiol. **162**, 457 (1950).

Dr. Heinz Lüllmann, Mainz, Pharmakol. Institut, Langenbeckstr. 1.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 225—240 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Professor Dr. L. Lendle).

Zur Frage der verschiedenen Empfindlichkeit des Ratten- und Meerschweinchenherzens gegen Digitalis und andere Kontrakturgifte (Ba, Ca).

Von

G. Hoffmann und H. Wienke.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Juni 1952.)

Über die Ursache der Unterempfindlichkeit der Ratte gegen Digitalis besteht keine Klarheit. Gunn[21] stellte bei Perfusion des isolierten Rattenherzens fest, daß dieses selbst der Sitz der Unterempfindlichkeit ist. Clark[10] führte diese Abweichung auf eine mangelhafte Bindungsfähigkeit zurück. Straub[67] meinte, daß das Rattenblut Fermente enthielte, die eine schnelle Zerstörung des Glykosids ermöglichen. Nach Neumann[47] kommen aber im tierischen Organismus nirgends Fermente vor, die eine Glykosidspaltung in vivo bewirken könnten.

Genuit[15] hat zuletzt bei vergleichender Prüfung der Bindungsbedingungen der Glykoside an isolierten Ratten- und Meerschweinchenherzen zeigen können, daß beide Tierarten je 10% der verschieden hohen letalen Dosis am Herzen zu binden vermögen, so daß auch nicht Unterschiede der Verteilungsvorgänge die Unterempfindlichkeit zu erklären vermögen. Allerdings war keine so erschöpfende Bindung der Glykoside am Rattenherzen festzustellen wie für isolierte Katzenherzen (Weese[68, 69], Rothlin[53]). Genuit[15] vermutete, daß vielleicht Unterschiede im stoffwechselchemischen Verhalten für die geringere Empfindlichkeit der Ratte verantwortlich sind. Gemeinsam mit Haarmann fand Genuit[17] aber für Sauerstoffverbrauch und Milchsäurebildung am Herz- und Skeletmuskelbrei von Ratten und Meerschweinchen keine Unterschiede. Sie fanden freilich an diesem Substrat Wirkungen überhaupt erst mit toxischen Konzentrationen.

Nach diesen nicht befriedigenden Deutungsversuchen blieb die Überlegung zu prüfen, ob evtl. Reaktionseigenarten des Rattenherzens gegenüber dem Meerschweinchenherzen dafür verantwortlich zu machen sind, welche sich in einer geringeren Kontrakturneigung, Flimmerbereitschaft und auch einer anderen Empfindlichkeit der Coronargefäße zeigen konnten. Wenn diese Hypothese richtig ist, müßten diese Eigenheiten auch unspezifisch für andere Gifte gelten.

Wir studierten daher die Einwirkung von Calcium und Barium in ihrer Wirkung auf das isolierte Meerschweinchen- und Rattenherz bei gleichzeitiger Beobachtung der Coronardurchströmung, der Frequenz, der Kontraktionsgröße und Form. In einer besonderen Versuchsreihe verglichen wir des weiteren die Veränderungen im EKG unter langsamen Digitalisvergiftungen bei beiden Tierarten, um Eigenarten der

unterschiedlichen Reizbildung oder Reizleitung unter Digitalis zu erkennen (in der Literatur sind unseres Wissens keine derartigen Angaben über das Ratten-EKG beschrieben worden).

I. Versuche am isolierten Herz.

A. Methodik.

Die Versuche am isolierten Herzen wurden in der Anordnung nach Langendorff[37] durchgeführt. Für die Zuflußkanüle benutzten wir eine kleine Abänderung, indem wir dicht vor dem Zufluß zum Herzen noch eine weitere Abflußröhre anbrachten, so daß das System unabhängig von der Herzdurchströmung durchflossen wurde. Wir waren so in der Lage, Temperaturdifferenzen nach Umschalten der Vorratsgefäße bzw. infolge Minderung des Coronardurchflusses weitgehend auszuschalten. Die Sauerstoffzuführung und die Druckregulierung nahmen wir entsprechend dem von Genuit beschriebenen Verfahren vor. Unter O_2-Durchperlung der zugeführten Flüssigkeit blieben die Herzen über 4—5 Std gleichmäßig ansprechbar. Die Temperatur hielten wir entsprechend der Körpertemperatur auf 38° konstant ($\pm$ 0,2°). Die Präparation erfolgte nach Hildebrandt[27]. Vor Lösung aus dem Körper spülten wir die Herzen durch Einbinden einer Kanüle in die Vena cava inferior 5 min mit entsprechend temperierter Ringer-Lösung durch, so daß praktisch keine Blutrückstände bzw. Thromben die anschließende Durchströmung beeinflussen konnten. Mit diesem Verfahren war es möglich, nahezu in 100% der Fälle relativ gut schlagende Herzen zu erhalten.

Vor Beginn des Versuches beobachteten wir die Herzen mindestens ½ Std, wonach meist die am Anfang auftretenden Unregelmäßigkeiten der Frequenz und der Kontraktionshöhe sich eingespielt hatten. Als Beobachtungszeit unter Gifteinwirkung wählten wir jeweils für die einzelnen Herzen 10 min, da nach Loewi[44] länger dauernde Durchströmung irreversible Schädigungen bewirken können. Wir registrierten die Kontraktionshöhe über einen Schreibhebel auf einer Rußtrommel, dazu mit Hilfe eines Tropfenzählers die jeweilige Durchflußmenge. Die Frequenz zählten wir in entsprechenden Zeitintervallen.

Für die Berechnung der in Tab. 1 angegebenen Bewertung liegen jeweils 10 Einzelversuche zugrunde. Die Angaben sind in Prozent des vor dem betreffenden Versuch gegebenen Ausgangswertes dargestellt. Für den Ausgangswert legten wir den Mittelwert einer Beobachtungszeit von jeweils 5 min zugrunde.

B. Versuchsergebnisse.

Wegen der Ähnlichkeit der Wirkungen von Calcium und Barium sei mit der Schilderung der *Calciumwirkung am Meerschweinchenherzen* der grundsätzliche Mechanismus aufgezeigt.

Erhöhung des Calciumchlorid-Gehaltes in der Ringerlösung um 100%, was einer Konzentration von 2:5000 entspricht, verminderte sofort nach Umschaltung deutlich die Durchflußmenge der Coronargefäße. (Eine nur 50%ige Erhöhung zeigte keinen sicheren Effekt, manchmal erschien der Durchfluß sogar etwas gesteigert.)

Höhere Konzentrationen führten zu einer entsprechend stärkeren Wirkung, die immer nach längstens 8 Minuten ihren Höhepunkt erreichte.

Bei einer Konzentration von 1:500 war der Coronarspasmus derart stark, daß nur noch ein geringer Durchfluß zu beobachten war. Nach

Tabelle 1. *Calciumwirkungen auf das Herz.*

Tierart	Konzentration	Coronardurchfluß	Herzfrequenz	Amplitude	Bemerkungen
Meerschw.	1 : 500	— —	Herzstillst.	(+)	diastolischer Stillstand
„	1 : 1000	—	— —	(+)	
„	1 : 2500	(–)	–	(+)	
			(—)		
„	3 : 10000	0	(+)	(+)	nach RINGER-Umstell.
			(—)		Freq. teilw. gesteigert[1]
Ratte	1 : 500	Herzstillstand mit Durchflußhemmung um mehr als 50%		(+) anfänglich	systolischer Stillstand zum Teil reversibel vereinzelt Flimmern
„	1 : 1000		— —	(+)	beginnende Kontrakt.
„	1 : 2500	( )	—	(+)	
		(+)	(+)		
„	3 : 10000	0	(—)	0	
			(+)		

Tabelle 2. *Bariumwirkungen auf das Herz.*

Tierart	Konzentration	Coronardurchfluß	Herzfrequenz	Amplitude	Bemerkungen
Meerschw.	1 : 1000	kein Durchfluß — —	Herzstillst.		diastol. Herzstillstand (meist reversibel)
„	1 : 5000	— —	— — —	—	
„	1 : 10000	— —	—	—	
„	1 : 50000	( )	(—)	0	
„	1 : 100000	0 (+)	(—)	0	Frequenz nach RINGER
			(+)		oft beschleunigt[1]
Ratte	1 : 1000	kein Durchfluß — —	Herzstillst.		systol. Herzstillstand (meist nicht reversibel) vereinzelt Flimmern
„	1 : 5000	— —	—	— —	Kontraktur
„	1 : 10000	—	—	—	Mittelstellung
„	1 : 50000	(–)	(—)	(—)	n. RINGER-Umschalt.
			(+)	(+)	Freq. teilw. gesteigert[1]
„	1 : 100000	0 (+)	(—)	0	
			(+)		

Zeichenerklärung: 0 = kein Effekt; (+) = Förderung, (—) = Hemmung um 10—25%; + = Förderung, — = Hemmung um 25—50%; ++ = Förderung, —— = Hemmung um > 50%.

[1] Frequenz nach RINGER-Umschaltung oft kurzfristig gesteigert (siehe Text).

Umschaltung auf Ringer war die Wirkung sofort auswaschbar, doch wurde, besonders bei höheren Konzentrationen, die Ausgangslage nicht wieder erreicht. Ähnliches beschrieb Orzechowski nach Durchströmung mit verschiedensten Giftlösungen. Es sei darauf hingewiesen, daß wir aber unter Ringerdurchströmung ein stundenlanges Konstantbleiben des Durchflußwertes auch bei Austausch der Ringergefäße beobachtenkonnten.

Eine Beeinflussung der Frequenz war bereits mit Erhöhung des $CaCl_2$-Gehaltes um 50% (3:10000 in der Ringerlösung) zu beobachten und zeigte sich sowohl in einer Frequenzerhöhung als auch in einer Minderung. Doch höhere Konzentrationen führten konzentrationsabhängig nur zur Verminderung der Frequenz und bei 1:500 trat *diastolischer Herzstillstand* ein. Danach war im Gegensatz zu allen anderen Konzentrationen die Erholung schlechter. Bei den Grenzkonzentrationen trat häufig nach Ringerspülung sogar eine geringe Erhöhung der Frequenz über den Ausgangswert auf, die aber nach ungefähr 10 min spontan zurückging. Flimmern konnten wir am Meerschweinchenherzen in keinem Fall beobachten.

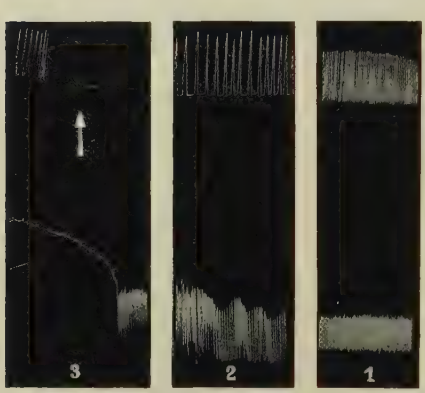


Abb. 1. Herzstillstand bei Perfusion mit $CaCl_2$ 1 : 500. Obere Hälfte: Meerschweinchenherz, diastolisch gelähmt (*3*) bei ↓ Ringer-Spülung. Untere Hälfte: Rattenherz, systolisch gelähmt (*3*). (*1*) Vor Umschaltung auf Giftlösung, (*2*) Erste Phase der Giftwirkung. Registrierung der Kurve von rechts nach links zu lesen.

Die Höhe der Kontraktionen wurde von der gleichen Grenzkonzentration ab vergrößert, wobei die Konzentration von 1:1000 auch eine geringe Verkürzung in der Diastole bewirkte, doch blieb — wie oben schon ausgeführt — das Herz bei 1:500 in diastolischer Stellung stehen. Nach Umschaltung auf Ringer waren auch hier die Wirkungen wieder reversibel.

Am *Herzen der Ratte* fanden wir nun dieselben Grenzkonzentrationen wirksam. In qualitativer Hinsicht schien in höheren Konzentrationen der Coronarspasmus etwas stärker ausgeprägt zu sein, doch als einzigen augenscheinlichen Unterschied sahen wir eine stärkere Beeinflussung der diastolischen Verkürzung, indem bei einer Konzentration von 1:1000 diese schon deutlich ausgeprägt war und es bei 1:500 unter Verkleinerung der Amplitudengröße zu einem *systolischen Stillstand* des Rattenherzens kam, welcher sich dazu auch noch schlechter auswaschen ließ als der diastolische des Meerschweinchenherzens. Vereinzelt war auch eine geringe Flimmerneigung der Herzen trotz vorausgegangener Frequenzminderung kurz vor dem Stillstand festzustellen.

Wir fanden also *im Gegensatz zu unserer Vermutung eine Kontrakturneigung des Rattenherzens und einen diastolischen Stillstand des Meerschweinchenherzens* (vgl. Abb. 1).

Die gleichen Verhältnisse in qualitativer Hinsicht ergaben auch die *Versuche mit Bariumchlorid* (s. Tab. 2). Dabei zeigten die Grenzkonzentrationen, die bei 1:100000 bis 1:50000 lagen, ebenfalls teilweise stimulierende Wirkungen. Gegenüber dem Calciumchlorid erwies sich das $BaCl_2$ besonders unter Berücksichtigung molarer Verhältnisse als wesentlich stärker wirksam. Auch hier war der *systolische Stillstand des Rattenherzens (bei 1:1000) gegenüber dem diastolischen des Meerschweinchen-*

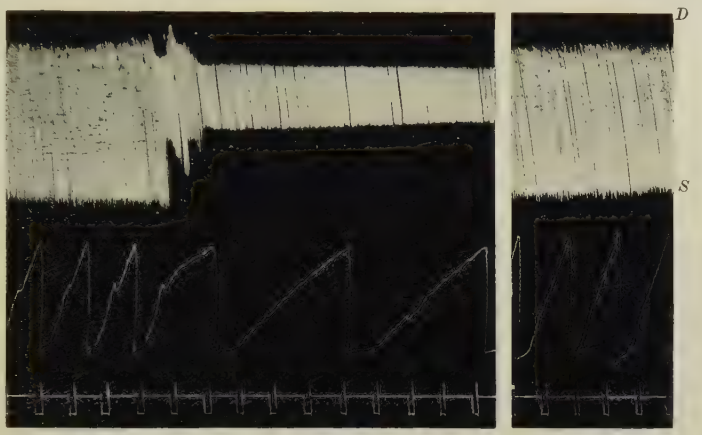


Abb. 2. Meerschweinchenherz bei RINGER-Perfusion. Registrierung der Kontraktion und Amplitude (obere Kurve). Registrierung des Coronardurchflußvolumens (mittlere Kurve). Jedes Dreieck entspricht den gleichen Flüssigkeitsmengen. Steilheit des Anstieges ist Kennzeichnung der Förderungsgeschwindigkeit. Zeitschreibung in 30 sec. *F* bedeutet Frequenz. Bei ↑ *a* Druckherabsetzung im Coronarzufluß, bei ↑ *b* Rückkehr zur Ausgangsstellung, *D*: Diastole, *S*: Systole.

herzens der einzig deutliche Unterschied der Herzen beider Tierarten, und ferner ließ sich der systolische Stillstand meist nicht wieder auswaschen.

Gegenüber dem Ca zeigte sich beim Ba eine stärkere Coronarverengerung und ab 1:10000 eine Verkleinerung der Amplitude beider Herzen, wobei das Meerschweinchenherz dem diastolischen Stillstand zustrebte und somit eine Verkleinerung hierbei nicht als durch die beginnende Kontraktur bedingt erklärt werden kann.

Im Hinblick auf die Coronarverengerung war noch die mögliche Abhängigkeit der Herzfunktion davon zu überprüfen. Wir verminderten durch Druckherabsetzung die Durchflußmenge der Coronarien. Es trat darauf bei beiden Herzen in gleicher Weise eine Verminderung der Frequenz in Erscheinung, die wohl eine Abhängigkeit von dem Grade der Coronarverengerung zeigte, doch nur ein geringeres Ausmaß annahm. Ferner erfolgte eine Verkleinerung der Amplitude ohne hervortretende Kontrakturerscheinungen. Herzstillstände entsprechend den oben beschriebenen sahen wir in der von uns gewählten Beobachtungszeit von 10 min nicht (Abb. 2).

Unter diesen Gegebenheiten dürften die Coronarerweiterungen unter den geringen Grenzdosierungen wohl als sekundäre Folge der Stimulierung betrachtet werden, wie sie auch Rothlin[54] an diesem Präparat nach Digitalis und Rein[51] am Ganztier in Abhängigkeit von der Herzfunktion beschrieben haben.

Für die stärkeren Konzentrationen, die eine eindeutige Durchflußverminderung hervorrufen, halten wir aber doch eine primäre Wirkung an den Kranzgefäßen für wahrscheinlich, da einmal von Krawkow[35] am stillstehenden Kaninchenherz in dieser Anordnung eine direkte Beeinflussung in gleicher Größenordnung nachgewiesen wurde und ferner bei der gleichsinnigen Veränderung der Frequenz am Meerschweinchen- und Rattenherzen die unterschiedliche diastolische Faserlänge bei regulativer Verengerung Unterschiede in der Durchströmung hätte zeigen müssen, da der Energieverbrauch des Herzens allein abhängig ist von der diastolischen Faserlänge (Starling[63]). Wie oben schon erwähnt, hatte Rothlin[54] dies für Digitalis gezeigt, und zwar auch in Dosen, die sonst an der isolierten glatten Muskulatur der Gefäße und des Darmes eine Kontraktion hervorrufen (Lendle[38], Hoffmann u. Lendle[29a]).

Bevor wir also eine Aussage über die Eigenwirkung von Ba und Ca auf den Herzmuskel machen, müssen wir erwägen, wie weit Effekte bereits durch Coronarverengerung bedingt sein können. Für die Frequenz gehen die Veränderungen weitgehend denen nach Durchflußverminderung parallel und es läßt sich eigentlich nur eine zusätzliche Wirkungsbeschleunigung feststellen, so daß die Stillstände bereits nach wenigen Minuten eintreten, während Langendorff dazu bei alleiniger Coronarabsperrung mindestens 15 min benötigte.

Anders liegen die Verhältnisse aber bei der Betrachtung der Amplitude und der Art des Herzstillstandes, wo sich doch deutlich Abweichungen sowohl in der Wirkung von Ba und Ca als auch der Herzen untereinander zeigen. Beim Bariumchlorid ist nur eine Verkleinerung der Kontraktionen zu sehen, wobei aber im Gegensatz zum Stillstand nach Durchflußverminderung bei der Ratte das Herz in Systole stillsteht, was auch unter Ca der Fall ist, nur daß hier auch noch eine Vergrößerung der Amplituden besonders deutlich beim Meerschweinchen in Erscheinung tritt. Es dürfte sich hierbei um direkte Einwirkung auf das Herz handeln.

Es ist eigenartig, daß am Meerschweinchenherzen eine deutliche Kontrakturwirkung nur an den Gefäßen und nicht am Herzmuskel selbst in Erscheinung tritt und eine unterschiedliche Beantwortung der Einwirkung von Barium und Calcium gegenüber dem Rattenherzen nur im Hinblick auf die Kontrakturwirkung sicher zu entscheiden ist. Man gewinnt den Eindruck, als wenn beim Meerschweinchenherz durch den Coronarspasmus die Kontrakturwirkung verhindert wäre.

Bei der Digitaliseinwirkung ist die Form des Stillstandes in Diastole oder Systole, besonders in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit und auch vom Tier-

material, oft beschrieben worden (Gottlieb[19], Straub[65], Weese[69] u. a.). Werchinin[70] fand für die Calcium- und Bariumwirkung am Froschherzen das gleiche, und Pick[49] beschrieb paradoxe Adrenalinwirkungen, indem das Herz einmal diastolisch, einmal systolisch zum Stillstand kam in Abhängigkeit von der Calciumkonzentration der Ringer-Lösung.

Aber nach der Arbeit von Kolm u. Pick[34] sind die Verhältnisse doch komplizierter und von verschiedenen, teilweise unbekannten Faktoren abhängig; denn wie z. B. schon unsere Versuche zeigen, wird die Kontraktionshöhe bei beiden Herzen nach Calcium gleichsinnig beeinflußt, d. h. es wird eine direkte, gleichgerichtete Herzmuskelwirkung sichtbar, wobei der Kontrakturvorgang aber gegensinnig verläuft und eigenen Gesetzmäßigkeiten folgt, wozu in diesem Falle der von der Herzschlagfolge abhängige „Kontraktionsrückstand" (Straub[66]) nicht zur Erklärung ausreicht. In diesem Zusammenhang sind die theoretischen Vorstellungen von Reichel[50] über verschiedene funktionelle Herzelemente wohl bedeutungsvoll.

Zusammenfassend können wir sagen, daß unter Calcium- und Bariumchlorid neben einer Coronarverengerung und ihren Folgen sich vornehmlich eine Beeinflussung der Kontraktion als direkte Beeinflussung der Herzen findet, wobei am Rattenherz im Gegensatz zum Meerschweinchenherz eine deutliche Kontrakturwirkung hervortritt.

II. EKG-Befunde während tödlicher Digitalis-Infusion.

Nach unseren in Teil I beschriebenen Befunden erhob sich die Frage, ob an Ratten- und Merrschweinchenherzen Unterschiede in der Digitaliswirkung auf die Erregungsbildung und Ausbreitung bestehen.

In Anlehnung an frühere Auswertungsversuche prüften wir an Ratten und Meerschweinchen, an denen anscheinend bisher solche EKG-Untersuchungen noch nicht vorgenommen worden sind, die Herzstromkurve nach Lanadigin. Wir leiteten ab 15 min alle 5 min die Stromkurve ab. Eine Normalkurve war vorausgegangen. Die Registrierung erfolgte in Ableitung II mit Nadelelektroden. Bei der Auswertung der Filme beobachteten wir besonders die Veränderungen der Frequenz, die PQ-Zeit, die QT-Zeit*, das Auftreten von Blocks, Extrasystolie und Deformierungen der Stromkurve. Als positive Befunde bewerteten wir Veränderungen von 25% bei PQ und 15% für die Frequenz.

Wir narkotisierten die Tiere mit 1,1 g/kg Urethan 2 Std vor dem Versuch. Des öfteren wurde beim Einbinden der Kanüle etwas Äther zunarkotisiert. Nach der Operation warteten wir eine Zeitspanne von 1 Std ab und infundierten dann mit dem Infus.-Gerät nach Hoffmann u. Witte[31], wobei die Zuführung so bemessen war, daß das Tier innerhalb von 50 min getötet wurde. Die Ableitung des EKG's erfolgte in Ableitung II, da nach Lepeschkin[42] am Meerschweinchen in dieser Ableitung Veränderungen am EKG, insbesondere negatives T, am besten zum Ausdruck kommen.

Die in der Tab. 3 dargestellten Werte sind der Mittelwert von jeweils 6 Versuchen. Die Veränderungen im EKG sind in Prozent der tödlichen Dosis angegeben.

---

* Wir verzichteten darauf, für die Auswertung von Q—T die Bazett-Formel anzuwenden, da Boros u. Mitarb.[7] darauf hinweisen, daß es eine allgemeingültige Durchschnittsformel für Tiere verschiedener Größe nicht geben kann, und es uns ja hier nur darauf ankam, Vergleichswerte in Prozent der tödlichen Dosis zu erhalten.

Tabelle 3. *EKG-Veränderungen bei Dosierung in Prozent der tödlichen Dosis.*

Tierart	Glykosid	tödl. Dosis mg/kg	PQ-Verlängerung	Freq.-Vermind.	QT-Verlängerung	Block	Tachykardie	Extrasystole	T-Umkehr	Deformierungen	Bemerkungen
Ratte	Lanadigin	30,3	58	63	55	83	92	89			
,,	,,	49,1	38	47	53	71	—		—	—	m. künstl. Atmung
Meerschw.	,,	0,88	43	45	46	71	66	83	—	72	
Katze	Digitoxin*	0,47	35	55	nicht einheitl.	60		—	nicht einheitl.	65	
,,	Digilanid**	0,452	36	35	nicht einheitl.	69	69	—	nicht einheitl.	—	

* Nach Versuchen von R. Walther. ** Nach Versuchen von G. Rothlin.

Am Meerschweinchen traten erste Erscheinungen (Verlängerung von PQ) sowie Frequenzminderung mit 43—46% der letalen Dosis auf. In einigen Versuchen stellte sich später (über 66% let. Dosis) eine Tachykardie ein; stärkere Veränderungen (Block, Extrasystolie, Deformierungen) erfolgten erst mit 70% der letalen Dosis. Eine Umkehr der T-Zacke erfolgte nur in einem Fall mit 71%.

Entsprechende Versuche an Ratten führten bei einer tödlichen Dosis von 30,3 mg/kg und einer Versuchsdauer von 50 min zu folgenden Ergebnissen: Die ersten Erscheinungen (wiederum Verlängerung von PQ und QT) erfolgten bei einer Dosis von 55 bis 58% der tödlichen Dosis. Desgleichen lag auch die Verminderung der Kammerfrequenz bei einer wesentlich höheren Dosis als bei den Meerschweinchen, und zwar 63 bis 80%. Eine Trachykardie war erst agonal feststellbar. Andere Veränderungen (Block, Extrasystolie, Deformierungen) traten mit etwa 90% der letalen Dosis auf. Eine Umkehr der T-Zacke erfolgte in 25% der Fälle zwischen 48 und 82%.

Da der Tod der Ratten unter Atemstillstand erfolgte, vermuteten wir, daß die Herzschädigung noch nicht so weit fortgeschritten sein konnte, daß diese als entscheidende Ursache des Exitus anzusprechen sei, sondern daß dieser vielmehr auf Grund einer vorzeitigen Atemlähmung eingetreten sei.

Wir stellten daher noch Versuche mit künstlich beatmeten Tieren an, um so den Herztod genauer zu

erfassen. Wir vermuteten, daß sich dann möglicherweise dieselben prozentualen Ergebnisse, wie an den Meerschweinchenherzen, festlegen ließen.

Die Beatmung erfolgte mit einer für Kleintiere gebauten Atmungspumpe, deren Frequenz und Volumen auf das entsprechende Tier eingestellt wurden. Die Einschaltung der künstlichen Atmung erfolgte bei einer Senkung der Atmungsfrequenz um mehr als 20%. Bei den durchgeführten Versuchen, deren Einlaufsgeschwindigkeit in der gleichen Größenordnung lag, ergab sich, daß der Tod durch Herzstillstand wesentlich später eintrat und somit die tödliche Dosis um 18,8 mg/kg, d. h. 60% gegenüber den nichtbeatmeten Tieren, angestiegen war.

Wie die Tab. 3 zeigt, liegen nun hier die Veränderungen der Frequenz bei derselben prozentualen Dosis wie der an Herztod verstorbenen Meerschweinchen. Desgleichen lagen die Verlängerungen von PQ bei 40% und die von QT bei 50%. Eine Blockbildung und Deformierung zeigten sich jetzt ebenfalls ab 70%. Negatives T, eine Tachykardie waren nicht festzustellen. Unsere Vermutung über die durch Atmungsverschlechterung bedingten EKG-Veränderungen, welche sich den durch Herzschädigung hervorgerufenen überlagerten, bestand somit zu Recht.

Zum Vergleich seien noch einige neue Angaben über solche Veränderungen bei Katzen unter Digilanid und Digitoxin der Literatur entnommen. Die Befunde stimmen mit unseren Angaben überein. Es zeigt sich, daß bei einem gewissen Prozentsatz der tödlichen Dosen Schädigungen am Herzen sichtbar werden, ohne daß dabei für den Zeitpunkt des Auftretens Artunterschiede, ähnlich wie bei der Höhe der tödlichen Dosis, in Erscheinung treten.

Der Vergiftungsablauf im Auftreten der Veränderungen ist so, wenn man von der aufzuwendenden Dosis und der Art des Stillstandes absieht, für die Ratte, das Meerschweinchen und die Katze ziemlich ähnlich. Es rangiert somit auch die Ratte in die bei Lepeschkin[42] beschriebene ziemlich regelmäßige Reihenfolge über das Auftreten der Veränderungen bei anderen Tierarten ein.

Auffallend ist bei unseren Befunden noch, daß die Ratten im Gegensatz zum Meerschweinchen eine so wesentliche Beeinträchtigung der Atmung zeigten. Dies kann natürlich allein durch die hohe Glykosidanhäufung im Rattenkörper bedingt sein, welche natürlich bei den anderen Tieren nicht erreicht wird, doch deuten unsere Erfahrungen (Hoffmann und Lendle[29]) bei langdauernden Titrationen mit Strophanthin am Merrschweinchen darauf hin, daß auch das Atemzentrum der Ratte unempfindlicher sein muß, da die Meerschweinchen bei viel kleineren Dosen an Atemlähmung eingingen.

III. Beziehungen der Dos. let. min. zur Grundfrequenz.

Da die vorausgegangenen Untersuchungen keine genügende Erklärung für die Digitalisunterempfindlichkeit des Rattenherzens in der

Richtung unserer Vermutungen gegeben hatten, wurde noch ein weiterer Gedankengang aufgenommen. Uns war aufgefallen, daß auch die isolierten Rattenherzen eine höhere Frequenz zeigten. Diese Tatsache ist am intakten Tier besonders deutlich erkennbar. Es erschien möglich, daß der Kontrakturvorgang bei Änderung der Zellgröße und damit verbundenen Frequenzänderungen vielleicht andere Bedingungen für die Erholung zur Folge hat. Diese Vermutung findet eine ganz besondere Stütze in den Befunden von Harrison[22] und von Boros[6], die zeigen konnten, daß die Frequenz sich in Abhängigkeit von dem Durchmesser der Herzmuskelfaser bzw. dem Herzgewicht charakteristisch für die einzelnen Tierarten ändert. Harrison hielt dies für den Ausdruck einer Relation zwischen Durchblutung und Zellgröße. Dazu kommt, daß das „normale Herz nicht nur zahlenmäßig genormt, sondern im Bereich des harmonischen Wachstums auch konstante Proportionen seiner Elemente zeigt", wie Linzbach[13] nachwies. Uns fiel auch ferner auf, daß die Herzgewichte der betreffenden Warmblüter in gleichem Verhältnis zum Gesamtgewicht standen, indem im Mittel eine Relation von 4—4,5 g Herzgewicht pro kg Körpergewicht sich ergab, was auch B. Behrens und E. Reichelt[4] für den Frosch zeigen konnten.

Es erschien uns daher angebracht, den Durchmesser der Hermuskelzelle bzw. die sich daraus ergebenden Grundfrequenzen, Oberflächen und Volumina mit den Ergebnissen der Toxizitätsbestimmungen für Digitalis zu vergleichen. Hierbei ist aus der Fülle der Beobachtungen nicht allein die schon beschriebene Tatsache der Unterempfindlichkeit des Rattenherzens zu entnehmen, sondern auch, daß *die Wirkungsgeschwindigkeit von Glykosiden bei Ratten erheblich schneller ist.*

Beziehungen der Wirkungsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Konzentration sind für das Warm- und Kaltblüterherz von Straub[65] und ferner von Weese[68] als lineare Funktion aufgezeigt worden. Auf Grund dieser Abhängigkeit hielten die Verfasser den Wirkungseintritt von Digitalis für einen Adsorptionsvorgang.

Bei der wechselseitigen Beziehung zwischen Zeit und Größe der Digitalisdosis, welche einen Herzstillstand herbeiführte, scheint es uns angebracht, zuerst die vergleichbare Dosis aufzuzeigen. Wie Hoffmann u. Lendle[29] neuerdings wieder besonders ausgeführt haben, ändert sich bei der intravenösen Dauerinfusion über längere Zeiträume die Größe der tödlichen Dosis, und zwar scheint bei zu schneller Infusion eine Übertitration vorzuliegen, was besonders für die Katze gilt (siehe Bauer u. Fromherz[2]), und bei länger dauernden Infusionen vergrößern Eliminationsvorgänge besonders bei der Ratte (siehe v. Kaulla[33]) die wahre Dosis erheblich. Es wurde daher von vielen Autoren (Herre[24], Hildebrandt[28], Straub[67], Meinert[45], Weese[69], Heubner u. v. Nyary[26] u. a.) die „Dosis letales Minima" (D.l.m.) oder „optimale Dosis" als Vergleichswert vorgeschlagen. Für diese Beziehungen zeigte Beccari[3] eine theoretische Kurve. Nach Rothlin u. a. ist die Dauer der tödlichen Infusion eine Funktion der Infusionsgeschwindigkeit in Form einer Hyperbel. Vom Herzen werden gegen 10% der tödlichen Dosis gebunden (Rothlin[53], Weese[68,69], Genuit[15]).

Bei der Zusammenstellung der Werte stellte uns Prof. LENDLE freundlicherweise die Ergebnisse seiner eigenen umfangreichen Versuche zur Verfügung, so daß wir uns die erneute Durchführung zahlreicher Titrationen ersparen konnten. Zur Ergänzung entnahmen wir den oben angeführten Arbeiten sowie der Zusammenfassung von LENDLE[39] weitere Dosen. Dabei machten wir noch folgende interessante Feststellung: Vergleicht man nämlich die von den verschiedenen Autoren ermittelten „zeitlosen" tödlichen Dosen bei intravenöser Applikation mit den durch die Dauerinfusion ermittelten der D. l. m., so sieht man, daß sie sich für die Digitalisglykoside sehr oft auf Bruchteile genau decken oder die Abweichung voneinander doch so gering ist, daß man sie miteinander identifizieren kann. Die D. l. m. entspricht also der L.D. 100 oder umgekehrt. (Die Abweichungen liegen nicht über den dreifachen Wert des mittleren Fehlers des Mittelwertes auseinander, was für signifikante Abweichungen gefordert wird.)

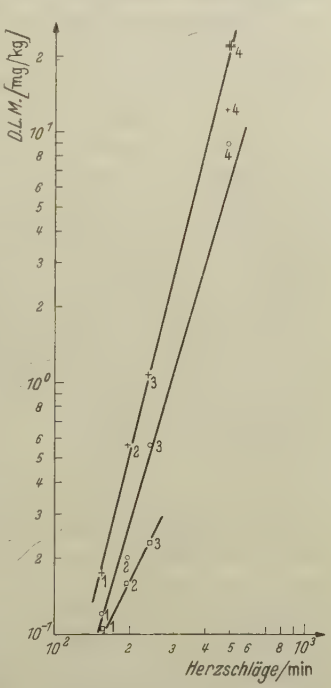


Abb. 3. Abhängigkeit der D.l.m. für Digitalis von der „Grundfrequenz" + Digitoxin, ○ k-Strophanthin, □ g-Strophanthin. 1. Katze, 2. Kaninchen, 3. Meerschweinchen, 4. Ratte. ⫩ Berechneter Wert: (siehe Text).

Wenn nun bei der tödlichen Dauerinfusion 10% der Dosis für den Herzstillstand notwendig sind, so muß diese Dosis, um denselben Effekt zu erreichen, auch bei der zeitlos letalen Dosis dem Herzen angeboten worden sein. Es würde sich daraus ergeben, daß man die tödliche Dosis Digitalis in einem bestimmten Zeitraum verabreichen kann, der durch die Länge der Infusionsdauer bei der D. l. m. charakterisiert wäre.

Setzt man nun diese gefundenen Werte entsprechend den obigen Ausführungen in Beziehung zu der Herzfrequenz der einzelnen Tierarten, wie wir es für die g- und k-Strophanthin- und Digitoxin-Dosis der Ratte, des Meerschweinchens, des Kaninchens und der Katze getan haben, so zeigt sich bei der graphischen Darstellung ein parabolischer Kurvenverlauf. Im logarithmischen Maßstab liegen diese gefundenen Werte dann so nahe um eine gerade Linie, wie die Abb. 3 zeigt, daß wir die L.D.M. wohl als eine Funktion der charakteristischen Grundfrequenz bzw. der sie bedingenden Zelldaten bezeichnen können. Die eben zur Tötung führende Dosis wäre dann dem Durchmesser und damit der Zelloberfläche und -Volumen umgekehrt proportional und

direkt proportional der Frequenz und der „spez. Oberfläche", womit wir die Gesamtzelloberfläche pro Raumeinheit bezeichnen wollen.

Bei den Untersuchungen zeigte sich, daß der Wert für das Digitoxin bei der Ratte etwas tief liegt. Mit Hilfe unserer mathematischen Formulierung der Kurve errechneten wir 22 mg/kg als D. l. m., was im Hinblick auf die intraperitoneal tödliche Dosis nach neueren Versuchen näherliegend ist, da wir hier mit Adhägon als Lösungsvermittler die sonst benötigte störende Alkoholkonzentration ausschalten konnten.

Es sei erwähnt, daß die tödlichen Dosen bei der Maus auch sehr hoch sind (Gottlieb). Nur bereitet natürlich hier eine exakte Bestimmung der D. l. m. bei der Kleinheit des Objektes und den benötigten hohen Dosen mehr technische Schwierigkeiten, so daß eine Verwertung wegen der größeren Fehlermöglichkeiten nicht vorgenommen wurde.

Für den Bereich oberhalb einer Herzfrequenz von ungefähr 130 fand Boros[7] übrigens auch ein Abweichen seiner mathematischen Formulierungen der Herzfrequenz als Funktion des Herzgewichtes von den experimentellen Daten. Bei Auswertung der Zahlen von Harrison[22] ergab sich eine lineare Funktion für diesen Bereich. Es liegt also ein Wendepunkt im Kurvenverlauf vor, der auf einen Unterschied zwischen kleineren und größeren Herzen hinweist. Größere Herzen haben eine erhöhte Grundfrequenz oder umgekehrt, die kleineren schlagen zu langsam. Wir werden dann für den niederen Frequenzbereich einen entsprechend weniger steilen Kurvenverlauf unserer oben aufgezeigten Funktion der D.l.m. erwarten müssen.

Besprechung der Ergebnisse.

Als allgemeines Ergebnis unserer vergleichenden Versuche ließ sich feststellen: Die D. l. m. von Digitalis bei verschiedenen Tierarten ist dem Herzgewicht und dem Zelldurchmesser umgekehrt proportional; dagegen direkt proportional der „Grundfrequenz", der größeren Zellzahl pro Raumeinheit und der „spezifischen Zelloberfläche", womit wir die Gesamtzelloberfläche pro Raumeinheit bezeichnen. Diese Tatsache ließe sich auch so formulieren: Je mehr selbständige Stoffwechselzentren pro Raumeinheit vorhanden sind und je schnellere Arbeit diese physiologischerweise in der Zeit leisten, um so höher liegt die tödliche Digitalisdosis und um so mehr wird demnach auch verbraucht, und fernerhin muß es um so rascher herangebracht werden. Die angebotenen Konzentrationen müssen höher liegen, um wirksam zu werden und die Wirkung wird schnell eintreten, während andererseits dann auch die Entgiftung schneller vor sich geht und somit eine geringe Kumulationsneigung besteht. So fielen Genuit am isolierten Rattenherzen Spontanerholung und eine geringe Kumulation des Digitoxins auf. In C^{14} radioaktives Digitoxin wird durch das Rattenherz gegenüber dem Katzenherzen wesentlich weniger lang fixiert (Sjoerdsma u. Fischer).

Die Art der Tätigkeit der Herzmuskelzelle ist ebenfalls sehr ausschlaggebend für die unterschiedliche Digitaliswirkung. Unterbrechung

z. B. der Reizung führt zu deutlicher Erholung der stillstehenden Herzen (Issekutz)[32]. Zwischen den vergifteten arbeitenden und ruhenden Rattenherzen bestehen nach den Versuchen von Helmreich u. Nowy[25] in der Gewebeatmung deutliche Unterschiede.

Aber auch am isolierten Skeletmuskel, wo Digitalis erst bei hohen Konzentrationen eine Kontraktion hervorruft, sind bei chemischer und elektrischer Reizung wesentlich geringere Dosen wirksam (Hoffmann[30]), und der Kontraktionsvorgang scheint für das Sichtbarwerden der Digitaliswirkung von prinzipieller Bedeutung zu sein. Obwohl nun an der glatten Muskulatur auch zwischen Kontraktion und „Tonus" ein enger Zusammenhang besteht (Greven[20]), fanden wir an der Darmmuskulatur allerdings keine artspezifischen Dosisunterschiede (Hoffmann u. Lendle[29a], Lendle[39]).

Wenn nun die Tätigkeit des Herzmuskels als Voraussetzung für eine bevorzugte Digitaliswirkung angesehen wird, gewinnt natürlich die Möglichkeit eines stoffwechselchemischen Wirkungsmechanismus (Bauer u. Fromherz[1]) oder gar eines Eingriffes in fermentaktive Reaktionen (Hegglin u. Mitarb.[23], Graham, Chen u. Geiling[18]) an Bedeutung, besonders da die Wirkung und das Haftvermögen je nach der chemischen Konstitution der Digitalisstoffe recht unterschiedlich sind (Rothlin[56], Straub[65], Neumann[46], Jakobs und Hoffmann).

So soll auch Strophanthin, wie verschiedene Farbstoffe, vom arbeitenden Muskel stärker aufgenommen werden (Zipf[74]). Es ist auch kennzeichnend für eine Reihe von Farbstoffen (Brillantkongorot, Nil- und Methylenblau u. a., Ruppert[58], Fraunel u. König[14], Zipf[75]), daß sie sehr digitalisähnliche Wirkungen aufweisen. Der Grad der Aufnahme wäre dann von der Innenrelation der Zelle abhängig (Bethe u. Pohle[5]). Dies erscheint verständlich, da wohl jeder Kontraktion eine — wenn auch nur vorübergehende — Strukturveränderung und damit auch eine innere Oberflächenveränderung entspricht. Eine alleinige Digitaliswirkung über die äußeren Zelloberflächen scheint uns nicht wahrscheinlich, da die größeren Herzen, die auch eine größere absolute Zelloberfläche besitzen, nur die absolut kleinere tödliche Dosis benötigen.

Ob ein allgemeiner Zusammenhang zwischen dem Durchmesser der Herzmuskelzelle und dem A.T.P.-Gehalt besteht, welcher für die Muskelzellkontraktion bedeutsam ist (Lettre[41], Brachet[8]) und am hypertrophen Muskel vermindert gefunden wurde (Graham[18]), ist uns nicht bekannt, jedoch wissen wir, daß infolge Oberflächenänderung bei Strukturlockerung u. a. gestörte enzymatische Reaktionen durch Brückenbildner eine Reaktivierung infolge Strukturverfestigung erfahren (Lembke u. Mitarb.[40]) und daß unter Digitoxin eine Verfestigung eintritt (Kuschinski u. Mitarb.[36]).

Hiernach gewänne die Hypothese am meisten Wahrscheinlichkeit, daß Digitalis die Strukturelemente der Zelle beeinflußt und somit natürlich auch den Stoffwechsel, und daß bei der Tätigkeit der Muskelzelle sich besondere Angriffspunkte bieten, die die unterschiedliche Empfindlichkeit der einzelnen Herzen bedingen. Dies würde verständlich machen, daß Digitalis am Homogenat — wo die spezifischen Strukturen und Oberflächen zerstört sind — im Gegensatz zum Gewebsschnitt keine Wirkungen zeigt (Wollenberger[73], Rothlin u. Schoelly[57], Fischer, Huber und Langemann[12]). Die gefundenen Beziehungen der Digitaliswirkung zu Adsorptionsvorgängen (Weese[69], Straub[67]) lassen

nach neueren Vorstellungen von den Wechselbeziehungen angelagerter Moleküle (Scheibe[60], Schmitt[61], Wirtz[71], Förster[13], Bücher u. Kaspers[9]) durch Wasserstoffbrücken und Dispersionskräfte eine Beeinflussung von Stoffwechselvorgängen möglich erscheinen.

Bei einer „direkten Veränderung der Muskelkolloide" (Riesser) nach Calcium und Barium sahen wir im Gegensatz zu den Glykosiden keine derartig imponierenden Dosisunterschiede der einzelnen Herzen, und dies mag als weiterer Beweis zu werten sein, daß die Ca- und Digitaliswirkung nicht gleichartig ist, sondern daß verschiedene Angriffspunkte beider Stoffe vorliegen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Größe des Herzens und die dadurch festgelegte Tätigkeit die unterschiedliche Empfinglichkeit gegen Digitalis bestimmt. Dieses entspricht auch der klassischen Formulierung der Digitaliswirkung, daß nämlich die Domäne der Digitalistherapie die großen hypertrophischen Herzen sind (zit. nach Boros[7]) und dem gegenüber die gesunden Herzen, d. h. die kleineren, als unempfindlicher zu betrachten sind (Dönhardt). Unsere vergleichenden EKG-Untersuchungen zeigten ebenfalls, daß bei ungefähr demselben Prozentsatz der tödlichen Dosen EKG-Veränderungen zu finden sind, die zwar in ihrer Form etwas uneinheitlich auftreten, jedoch nie früher, so daß man sie als quantitatives Maß nicht des Grades, aber des Beginnes tiefgreifender Digitaliswirkungen bezeichnen kann. Es muß daraus gefolgert werden, daß jedes Herz entsprechend seiner Größe bzw. seines Funktionszustandes seine eigene therapeutische Dosis benötigt und daß diejenige der Ratte nicht mit der der Katze in absoluten Mengen ausgedrückt, verglichen werden kann.

Zusammenfassung.

Es wurde die Frage aufgenommen, ob die geringe Digitalisempfindlichkeit der Rattenherzen auf einer unspezifisch geringen Kontraktur- und Flimmerneigung des Organs bzw. einer geringeren Empfindlichkeit der Coronargefäße auch gegenüber andereren Giften — wie Calcium und Barium — beruht. Am durchströmten Ratten- und Merrschweinchenherzen zeigten beide Gifte keine Unterschiede in den toxischen Grenzkonzentrationen. Das Rattenherz neigte sogar stärker zu einer Kontraktur, während das Meerschweinchenherz in Diastole zum Stillstand kam. Eine besondere Flimmerneigung des Meerschweinchenherzens unter Barium gegenüber den Rattenherzen war nicht erkennbar. Die Meerschweinchenherzen zeigten eine stärkere Coronardrosselung, woraus sich vielleicht die Verhinderung der Kontrakturwirkung erklärt.

EKG-Registrierungen während der Infusion tödlicher Dosen von Lanadigin ergaben bei Ratten für den Eintritt der typischen Veränderungen keinen Unterschied gegenüber den Befunden am Mereschwein-

chen. Das Rattenherz zeigt also bei der relativ höheren Dosierung keine geringere Neigung zum Auftreten von Störungen in Reizbildung und -leitung.

Eine Betrachtung der tödlichen Dosierung von Digitalis bei verschiedenen Tierarten in Beziehung zur Grundfrequenz der Herztätigkeit ergab Gesichtspunkte für das Verständnis der geringeren Empfindlichkeit des Rattenherzens. Die tödliche Dosis scheint umgekehrt proportional dem Durchmesser der Herzmuskelzelle und direkt proportional der „Grundfrequenz" und der „spezifischen" Oberfläche (Gesamtzelloberfläche pro Raumeinheit). Somit scheint die Herzgröße für die Digitalisempfindlichkeit auch aus Stoffwechselgründen ein entscheidender Faktor zu sein.

Literatur.

[1] Bauer, H., u. K. Fromherz: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **172**, 693 (1933). — [2] Bauer, H., u. K. Fromherz: Klin. Wschr. **12**, 973 (1937). — [3] Beccari, R.: Arch. internat. Pharmacodynamie **73**, 65 (1946). — [4] Behrens, B., u. E. Reichelt: Z. exper. Med. **91**, 417 (1933). — [5] Bethe u. Pohle: Dtsch. med. Wschr. **1921**, 1465. — [6] Boros, B.: Z. inn. Med. u. Grenzgeb. **3**, 343 (1948). — [7] Boros, B.: Ärztl. Forschung **2**, 165, 1948. — [8] Brachet: Embryologie Chimique. Paris 1947. — [9] Bücher u. Kaspers: Z. Naturwiss. **93** (1946). — [10] Clark: J. of Pharmacol. **4**, 419 (1913). — [11] Dönhardt: Z. Kreislaufforschg **40**, 528 (1951). — [12] Fischer, Huber u. Langemann: Helvet. Physiol. Acta **9**, 416 (1951). — [13] Förster: Naturwiss. **1946**, 160. — [14] Fraunel u. König: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **125**, 193 (1927). — [15] Genuit, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **188**, 285 u. 302 (1938). — [16] Genuit, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **196**, 481 (1940). — [17] Genuit u. Haarmann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **196**, 481 (1940). — [18] Graham, Chen u. Geiling: Schweiz. med. Wschr. **25** (1947. — [19] Gottlieb, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **82**, 1 (1918). — [20] Greven: Klin. Wschr. **29**, 685 (1951). — [21] Gunn: J. of Pharmacol. **4**, 225 (1913). — [22] Harrison: Failure of the circulation. Baltimore 1935. — [23] Hegglin u. Mitarb.: Exper. **3**, 127 (1949). — [24] Herre: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **184**, 716 (1937). — [25] Helmreich u. Nowy: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 411 (1951). — [26] Heubner, W., u. A. v. Nyary: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **177**, 60 (1935). — [27] Hildebrandt, F.: Handb. d. biol. Arbeitsmeth., Bd. V, 8, S. 885. — [28] Hildebrandt, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **199**, 568 (1942). — [29] Hoffmann, G., u. L. Lendle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 376 (1951). — [29a] Hoffmann, G., u. L. Lendle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **217**, 184 (1952). — [30] Hoffmann, G. (wird a. O. veröffentlicht). — [31] Hoffmann, G., u. E. Witte: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 221 (1950). — [32] Issekutz: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **78**, 155 (1914). — [33] v. Kaulla, K. N.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **194**, 179 (1940). — [34] Kolm u. Pick: Arch. f. Physiol. **185**, 235 (1920). — [35] Krawkow: Pflügers Arch. **157**, 501 (1914). — [36] Kuschinski u. Mitarb.: Naturwiss. **529**, **38** (1951). — [37] Langendorff: Pflügers Arch. **61**, 291 (1895). — [38] Lendle, L.: Arzneimittelforschg **1**, 104 (1951). — [39] Lendle, L.: Heffter-Heubner Hdb., Erg. B. VII. — [40] Lembke u. Mitarb.: Naturwiss. **38**, 564 (1951). — [41] Lettré: Naturwiss. **38**, 490 (1951). — [42] Lepeschkin, Das „EKG". Dresden: Steinkopff 1942. — [43] Linzbach: Verh. dtsch. Ges. Kreislaufforschg 1950. — [44] Löwi: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **89**, 131 (1918). — [45] Mehnert: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **184**, 181 (1937). — [46] Neumann, W.: Arch.

exper. Path. u. Pharmakol. **185**, 329 (1937). — [17] Neumann, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **208**, 46 (1949). [18] Orzechowski, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **172**, 471 (1933). — [19] Pick: Wien. klin. Wschr. **33**, 1081 (1920). — [50] Reichel: Verh. dtsch. Ges. Kreislaufforschg **16**, 12 (1950). — [51] Rein, H.: Z. Biol. **92**, 10 (1932). — [52] Rein, H.: Lehrb. d. Physiologie. Springer-Verlag. — [53] Rothlin: Helvet. med. Acta **4** (1934). — [54] Rothlin: Schweiz. med. Wschr. **77**, 660 (1947). — [55] Rothlin: Helvet. Acta Pharmazeut. **22**, 428 (1947). — [56] Rothlin: Schweiz. med. Wschr. **1940**, 577. — [57] Rothlin u. Schoelly: Helvet. Physiol. Acta C 69 (1950). — [58] Ruppert: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **200**, 612, (1943). — [59] Schäfer, H.: Das „EKG". Springer 1951. — [60] Scheibe: Zwischenmolekuläre Kräfte. Karlsruhe: Braun 1949. — [61] Schmitt: Z. Naturforschg **26**, 98 (1947). — [62] Sjördsma u. Fischer: Circulation, S. 100. 1951. — [63] Starling: J. of Physiol. **62**, 243 (1927). — [64] Stoll: Schweiz. med. Wschr. **1940**, 594. — [65] Straub, W.: Z. Biol. **28**, 392 (1910). — [66] Straub, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **137**, 31 (1928). — [67] Straub, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **84**, 223 (1929). — [68] Weese, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **135**, 228 (1928). — [69] Weese, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **141**, 329 (1929). — [70] Werchinin. N.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **63**, 386 (1910). — [71] Werchinin, N.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **66**, 191 (1911). — [72] Wirtz: Z. Naturforschg **26**, 94 (1947). — [73] Wollenberger, A.: J. of Pharmacol. **97**, 311 (1949); **103**, 123 (1951). — [74] Zipf: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **124**, 250, 286 (1927). — [75] Zipf: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **140**, 56 (1929).

Dr. G. Hoffmann, Freiburg i. Br., Medizinische Universitäts-Klinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 241—255 (1953).

Institut Theodor Kocher de l'Université de Berne,
Laboratoire de culture de tissus
(Prof. Dr. E. Hintzsche).

Excitation et inhibition de la croissance étudiées sur des cultures in vitro de fibrocytes.

Histamine et antihistaminiques.

Par
J.-P. Muhlethaler.

Avec 4 figures dans le texte.

(Eingegangen am 14. Juni 1952.)

Position du problème et technique.

Si l'on ajoute à des cultures in vitro une substance étrangère, deux résultats sont possibles. Ou le produit est inactif, et les explantats continuent à accroître régulièrement leur surface, comme si rien ne s'était passé; un accroissement, rappelons-le, qui est la résultante de six facteurs: 3 positifs: multiplication, migration centrifuge et augmentation de la taille cellulaire; 3 négatifs: destruction, migration centripète et réduction de la taille cellulaire (Mayer, 1931). Ou la substance est active, et son influence se traduit par une accélération ou un ralentissement du rythme de croissance. La surface occupée par l'extension de la culture (auréole de croissance), au terme par exemple de 48 heures, est dans le premier cas plus grande, dans le deuxième plus petite, que chez les témoins non traités.

Les substances inhibant la croissance ont été surtout, jusqu'à aujourd'hui, le sujet d'innombrables recherches, avant tout descriptives. L'on a ainsi coutume, selon le point d'attaque du produit, d'y distinguer deux groupes: Les poisons plasmatiques ou métaboliques, et les poisons nucléaires ou poisons de la mitose (Brock, Druckrey et Herken, 1939; Haas, 1941). Dans cette dernière catégorie, il est d'usage de séparer, selon A.-P. Dustin (1938), deux types principaux: 1. Les poisons inhibiteurs de la caryocinèse, inhibant l'entrée en prophase, tels la trypaflavine et l'uréthane. 2. Les poisons stathmocinétiques ou caryoclasiques, tels la colchicine et l'arsenic, arrêtant la mitose à la métaphase.

Ces substances ont été étudiées de façon très approfondie par Bucher (1939 à 1952), qui a utilisé pour ses recherches une série de méthodes mises au point, en partie tout au moins, par W. von Möllendorff (1937, 1939, 1941): fréquence mitotique, analyse dynamique par le film, formules mitotique et métaphasique. Seul Lettré, en 1949, a considéré le problème d'un point de vue moins statique; selon lui, par exemple, l'action de la trypaflavine, l'un des poisons inhibiteurs de la caryocinèse, se ramènerait à une fixation des groupes puriques et pyrimidiques des acides nucléiques, et ainsi à une inhibition de la formation d'acide thymonucléique à partir de l'acide ribonucléique, préface chimique obligée du processus de division.

Nous avons également cherché à considérer le problème de l'inhibition et de l'excitation de la croissance d'un point de vue plus dynamique, plus pathogénique, en tentant de ramener à quelques principes généraux, l'influence, sur la cellule, de facteurs physiques ou chimiques.

Pour ce faire, nous avons comparé l'action de ces agents sur des cultures jeunes et vieilles de cœur embryonnaire de poulet. Par jeune, nous entendons le cœur d'un poulet à son dixième, onzième ou douzième jour d'incubation, explanté en présence d'un extrait de même âge; par vieux, le cœur d'un poulet à son dixseptième, dix-huitième ou dix-neuvième jour d'incubation, cultivé dans un extrait de la même période. A cette fin, l'embryon est sorti stérilement de sa coquille, le cœur prélevé et réduit en explantats de dimensions variables. Le reste du poulet est broyé dans la presse de FISCHER ou dilacéré au ciseau. A cette bouillie de chair, l'on ajoute un égal volume de Tyrode; la suspension ainsi obtenue est centrifugée dix minutes, le liquide surnageant recueilli et à nouveau dilué à demi dans le mélange de Tyrode (auquel, dans les conditions expérimentales, l'on ajoute la substance à étudier): cette solution définit l'extrait prêt à l'emploi. Une goutte de plasma d'une jeune poule et une goutte de cet extrait mélangées réalisent le milieu où l'explantat de cœur va ainsi pouvoir croître en présence d'un extrait provenant du même poulet que lui.

Les cultures sont dessinées à l'explantation et au terme de 48 heures. La division de la surface finale par l'initiale définit le cœfficient de croissance c, dont nous avons montré dans un précédent travail (1952) qu'il était d'autant plus élevé que l'étendue du morceau souche était plus petite; selon une hyperbole de type: $c = \frac{10^k}{s^a}$, où c représente le cœfficient de croissance, s la surface explantée (exprimée en unités planimétriques où 100 égale à peu près 1 mm²): où a définit la densité cellulaire totale et k la densité des seuls fibrocytes et leur degré de dédifférentiation. Entre le 10ème et le 12ème jour, l'on a ainsi pour le cœur de poulet $c = \frac{10^{3,0}}{s^{0,95}}$; entre le 17ème et le 19ème jour, $c = \frac{10^{2,7}}{s^{0,95}}$. Si maintenant l'on ajoute, à ces cultures contrôles, des substances activant ou inhibant la croissance, l'on obtiendra, pour chaque concentration, une nouvelle hyperbole, nécessairement multiple (excitation) ou sous-multiple (inhibition) de la courbe contrôle, puisque les valeurs de k et de a restent naturellement les mêmes. Entre le 10ème et le 12ème jour, l'on a donc: $c = \frac{10^{3,0}}{s^{0,95}} \times i$ (index de multiplication); entre le 17ème et le 19ème: $c = \frac{10^{2,7}}{s^{0,95}} \times i$. L'action d'un facteur quelconque sur une culture de tissu se traduit donc graphiquement très simplement en portant en abscisse les concentrations utilisées et en ordonnées la valeur correspondante de l'index de multiplication. C'et index est de 1,0 pour les contrôles, supérieur à 1 lors d'activation, inférieur à 1 lors d'inhibition de la croissance. L'index des contrôles entre le 17ème et le 19ème jour peut être soit fixé à 1,0, soit rapporté aux cultures jeunes et prendre, dans l'exemple plus haut cité, une valeur de 0,5 (l'explantat jeune poussant deux fois plus vite que l'âgé); la formule devient alors: $c = \frac{10^{3,0}}{s^{0,95}} \times 0,5 \times i$, et le produit $0,5 \times i$ est désormais porté en ordonnée en lieu et place de i. Nous utiliserons dans nos graphiques ces deux modes de représentation. Disons d'emblée que cette valeur de 0,5, index de multiplication des contrôles âgés, n'a rien de fixe et d'immuable. Car la culture, dans le cadre même limité de trois jours, fait légèrement varier la valeur de k, normalement plus grand au 10ème qu'au 12ème, au 17ème qu'au 19ème jour, et la précision de la fabrication de l'extrait n'est point telle non plus que k ait toujours, à un même jour, la même valeur. Il peut varier, du 10ème au 12ème jour, entre 2,9 et 3,1, du 17ème au 19ème, entre 2,6 et 2,8, accordant ainsi à l'index de multiplication des contrôles âgés une marge de variation comprise entre 0,3 et 0,8.

Mais cultures jeune et vieille ne diffèrent pas seulement par l'intensité de leur poussée proliférative. Comme nous l'avons montré en 1952, à égalité des surfaces

explantées, le métabolisme total, somme des métabolismes de fonction et de division, décroît à mesure que l'on s'adresse à des tissus plus âgés. Avec le vieillissement en outre, la proportion du métabolisme de division diminue au profit de la fonction: les cellules se multiplient moins, mais exercent plus intensément leur activité spécifique, sécrétion, phagocytose ou autre. Si l'on voulait traduire cela en valeurs absolument arbitraires, l'on pourrait dire que le métabolisme total d'un jeune explantat est de 18 unités, dont 12 seraient dévolues à la division et 6 à la fonction: chez les vieilles cultures, l'on aurait une somme de 16 unités, par exemple, dont 8 à la division et 8 à la fonction. Ces faits permettront d'expliquer facilement certaines particularités dans la structure des courbes d'excitation et d'inhibition de la croissance.

La notion de jeunesse ou de vieillesse du fragment mis en culture est déterminée essentiellement, à égalité du plasma utilisé, par l'âge de l'extrait, infiniment plus que par l'âge du tissu explanté. C'est ainsi que des fragments d'un cœur de poulet à son 18ème jour d'incubation se développent, en présence d'un extrait du 11ème jour, au même rythme et répondent de la même façon à des agents étrangers qu'un cœur du 11ème jour, plongé dans son extrait. A l'inverse, un cœur du 11ème jour, explanté dans un extrait du 18ème, réagit comme un cœur de poulet à son 18ème jour d'incubation, cultivé dans l'extrait du même animal. L'on peut du reste artificiellement et facilement vieillir un extrait. L'on sait en effet que des cultures mises en présence de concentrations décroissantes d'extrait, diminuent leur métabolisme de multiplication, mais accroissent celui de fonction, évolution normale du vieillissement. En diluant l'extrait du 11ème jour dans la proportion de 1/8 à 1/10, on lui donne des propriétés qui sont celles de l'extrait du 18ème. Le cœur de poulet à son 11ème jour d'incubation, explanté dans un tel mélange, réagira donc comme une vieille culture. Toutes ces observations facilitent considérablement les réalisations expérimentales.

Résultats.

En comparant l'action de différents facteurs physiques et chimiques sur la croissance des cultures, nous avons été amené à distinguer quatre groupes de principes: toxique, somnifère, stimulant et inhibiteur.

1. Toxiques.

Si l'on ajoute de l'alcool éthylique à des cultures jeunes et vieilles de cœur embryonnaire de poulet, l'on observe deux attitudes différentes. La cellule jeune réagit par une diminution régulière de son potentiel de division. L'index de multiplication, qui est fixé à 1,0 chez les contrôles, est à 0,98 pour une concentration de $2{,}5^0/_{000}$ d'alcool, à 0,94 pour $2{,}5^0/_{00}$, à 0,75 pour $2{,}5^0/_0$, et la courbe coupe la ligne des abscisses à $25^0/_0$ de concentration alcoolique. La culture âgée réagit de façon absolument différente; l'application de degrés croissant d'alcool détermine d'abord une excitation de la croissance, puis ralentissement, et enfin un arrêt définitif. Traduit en chiffres, l'on a, pour des concentrations successivement de 0, $2{,}5^0/_{000}$, $2{,}5^0/_{00}$, $2{,}5^0/_0$, des index de multiplication (courbe absolue) de 1,0, 1,1, 1,17, 0,99, — avec un maximum de 1,19 à $1{,}5^0/_{00}$ et une valeur de 0 pour $50^0/_0$; ou en rapportant ces valeurs à l'intensité de croissance des contrôles jeunes (courbe relative): 0,39, 0,43, 0,46, 0,385 (Fig. 1).

La caractéristique essentielle de ce schéma, typique des toxiques, est que la courbe absolue des cultures âgées est toujours située au-dessus de la courbe des explantats jeunes et qu'elle présente une légère phase initiale d'excitation. Il s'ensuit que la dose de toxique nécessaire à inhiber la croissance d'une cellule âgée est supérieure à celle indispensable à un jeune élément. La courbe relative des vieilles cultures coupera donc toujours la courbe des cultures jeunes.

Entre le 11ème et le 18ème jour, l'action de l'alcool dessine des valeurs intermédiaires aux deux courbes caractéristiques de ces âges. A mesure que l'on a affaire à des cultures plus jeunes, 16ème jour, 14ème jour, la dose d'inhibition totale s'abaisse, le maximum d'excitation apparaît à des concentrations plus faibles de toxique, sa valeur diminue peu à peu avec le rajeunissement, jusqu'au moment où il n'y a plus de maximum et la courbe dessine une chute régulière et constante. A l'inverse, au-delà du 18ème jour, l'excitation est plus prononcée, et provoquée par des concentrations plus élevées d'alcool. La dose d'inhibition totale s'élève avec l'âge.

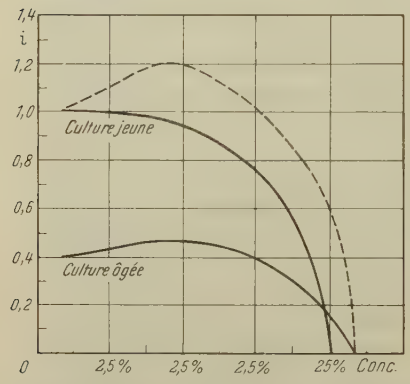


Fig. 1. Action de l'alcool sur des cultures jeunes et vieilles de cœur embryonnaire de poulet. En pointillé, la courbe absolue des cultures âgées.

Aussi, quand PARKER, MORGAN et MORTON (1950) écrivent que l'alcool active la croissance entre 0,1 et 0,5%, puis l'inhibe, nous ne pouvons partager cette opinion générale. Car elle n'est valable que pour un certain âge de culture, mais point pour toutes les catégories de fibroblastes de poulet.

Semblable propriété est partagée par les sels de métaux lourds, parmi lesquels nous citerons, pour l'avoir étudié de façon plus approfondie, le chlorure mercurique: la courbe absolue des tissus âgés est située au-dessus de celle, uniformément tombante, des cultures jeunes et présente une phase initiale de légère excitation. Traduit en chiffres, l'on a:

Conc. de sublimé	Tissu jeune	Tissu âgé	
		Courbe absolue	C. relative
0	1,0	1,0	0,48
1:100'000'000	0,97	1,08	0,52
1: 10'000'000	0,88	1,1	0,53
1: 1'000'000	0,71	0,98	0,47
1: 100'000	0,45	0,69	0,33

avec un maximum de 1,13 à 5:100'000'000.

La dose d'inhibition totale est de 6:100.000 pour une cellule jeune, de 11:100'000 pour un élément âgé.

Comme autre exemple, nous mentionnerons les composés chimiques à groupe CN. Ainsi le succinonitrile donne pour des concentrations croissantes de 0, 1:1'000'000, 1:100'000, 1:10'000 et 1:1000, des valeurs jeunes de 1,0, 0,98, 0,92, 0,77, 0,45; et vieilles des 1,0, 1,02, 1,06, 1,15 (maximum), 1,01; ou en valeurs relatives: 0,65, 0,66, 0,69, 0,75 (maximum), 0,66. Dose d'inhibition totale de 5:1000 pour une culture jeune, de 30:1000 pour un explantat âgé.

Les microbes toxiques, et nous entendons par là les microorganismes capables de léser le fonctionnement cellulaire, staphylocoques, streptocoques, colibacilles, semblent jouir des mêmes propriétés. L'expérience ne peut être bien entendue conduite avec la rigueur de concentration qui est celle des produits chimiques. L'on se contente d'ajouter aux cultures de fibrocytes des doses variables de microbes, sans aucune précision de leur nombre; l'on observe que, quelle que soit la densité ajoutée, même très faible, les cultures jeunes réagissent par une diminution de leur croissance; alors que les cellules âgées présentent, à de grosses dilutions microbiennes, une phase d'excitation. Cette action stimulante de microorganismes pathogènes n'est du reste pas un fait nouveau, puisque Carrel, en 1924, constatait déja qu'une plaie légèrement infectée guérissait plus rapidement qu'une blessure maintenue dans un état d'absolue stérilité.

Mais comment expliquer ce comportement différent de jeunes et de vieilles cultures. Pour ce faire, l'on a avantage à se rapporter à des essais que Fischer a consacrés à l'influence du p_H du milieu sur le rythme de prolifération. Cet auteur a montré que la croissance des fibroblastes était à son maximum pour un p_H de l'ordre de 7,4 (Fischer: Gewebezüchtung, 1927, pp. 238 et suivantes) et diminuait de part et d'autre de cette valeur: „Die Kurve fällt nach der sauren und nach der alkalischen Seite steil und annähernd symmetrisch ab, vielleicht etwas steiler nach der alkalischen Seite." Mais ces notions ne concernent que le milieu de culture. Car dans la cellule (comme dans l'organisme dans le rapport tissu-sang), la tension du CO 2, et de façon plus générale, la concentration des produits cataboliques acides, est plus élevée que dans le mélange plasma-extrait; le p_H des fibroblastes est donc inférieur à celui du milieu; et l'optimum de croissance se fixe désormais à un p_H intracellulaire de l'ordre de 7,1 à 7,2; de part et d'autre de cette valeur, le rythme de prolifération décroît.

Or si l'on mesure le p_H des cultures jeunes et vieilles, telles que nous les avons définies plus haut, l'on note pour les cellules âgées un p_H de 7,3, et pour les jeunes une valeur de 6,9. Fait aisément compréhensibel puisque, comme nous l'avons vu, le métabolisme total d'une culture

jeune est plus élevé, donc plus producteur de produits cataboliques acides qu'un explantat âgé. Ces deux types de fibroblastes sont ainsi situés de part et d'autre du p_H optimum. Supposons maintenant que l'on ajoute, à ces cultures, artificiellement des ions H^+, l'abaissement croissant du p_H va conduire les cellules jeunes d'emblée dans des zones moins favorables: le rythme de croissance sera toujours inférieur à celui des contrôles, et d'autant plus que le p_H sera plus faible. Les cultures âgées au contraire, par addition de ions H^+, passent du p_H 7,3 à l'optimum de 7,1—7,2. La croissance devient plus intense: la courbe de la prolifération en fonction de la concentration de H^+ présente donc une phase initiale d'excitation, passe par un maximum, puis décroît.

Ce comportement est superposable à celui que nous donne l'addition aux cultures de toxiques. L'on pourrait donc admettre que l'action de ces substances se ramène à une acidification intracellulaire; ou tout au moins, que la modification structurale apportée est analogue à celle que produit un abaissement du p_H cytoplasmique. Cette propriété, on l'a vu, est celle des microbes pathogènes; il est du reste possible que, quelle que soit leur origine, infectieuse ou non, tous les facteurs, agents inflammatoires à l'intérieur de l'organisme, agissent en définitive par une »acidification« du milieu cellulaire.

En fin de ce chapitre, nous voulons mentionner encore un dernier type d'expérience. Au lieu de réduire le métabolisme tissulaire par vieillissement, on le pourrait faire par d'autres facteurs, par exemple par baisse de la température. Les deux faits ne sont toutefois point équivalents. En vieillissant la culture, l'on diminue ses métabolismes total et de division, mais l'on augmente celui de fonction; en réduisant la température, on abaisse l'intensité des trois métabolismes. Pour reprendre les unités arbitraires que nous avions citées plus haut, une culture jeune se définissait par des valeurs de 18 (total) = 12 (division) + 6 (fonction), une cellule vieille par 16 = 8 + 8. En réduisant la température à 33°, le métabolisme de division d'une culture jeune, comme nous le verrons, tombe aux 2/3 de sa valeur initiale; en admettant que le métabolisme de fonction se réduise dans la même proportion, l'on aurait donc: 12 = 8 + 4; un métabolisme total donc inférieur à celui des tissus âgés, bien que leur intensité de multiplication soit la même; un p_H cellulaire donc plus élevé. Il s'ensuit qu'à égalité de croissance de leurs contrôles, les cultures «refroidies» donneront une courbe de réaction à l'alcool dont le maximum sera plus haut situé et plus tardif que chez les équivalents «vieillis».

Alcool: . . .	0	2,5‰	2,5‰	2,5%	
Vieilli: . . .	0,39	0,43	0,46	0,385	(Max. de 0,465 à 1,5‰)
Refroidi: . .	0,39	0,46	0,51	0,44	(Max. de 0,515 à 2,3‰)

2. Somnifères.

Nous avons à ce groupe donné le nom de somnifère parce qu'il est dominé essentiellement par l'exemple du barbital, du gardénal et du chloral. Leurs propriétés sont exactement opposées à celles des toxiques. Si l'on ajoute en effet du chloral à des cultures, l'on observe, cette fois-ci, chez les explantats âgés, une chute régulière de la courbe des index de multiplication. Chez les cultures jeunes au contraire, la courbe s'élève jusqu'à un maximum, plus prononcé que lors de l'action de toxiques sur de vieux explantats, puis s'abaisse jusqu'à 0 (Fig. 2).

La caractéristique de ce schéma, typique des somnifères, est que la courbe des cultures jeunes est toujours située au-dessus de la courbe absolue des explantats âgés et qu'elle présente une phase initiale prononcée d'excitation. Il s'ensuit que la dose de somnifère nécessaire à inhiber la croissance d'une cellule jeune est supérieure à celle indispensable à un vieil élément. Les courbes des cultures âgées et jeunes ne se coupent jamais.

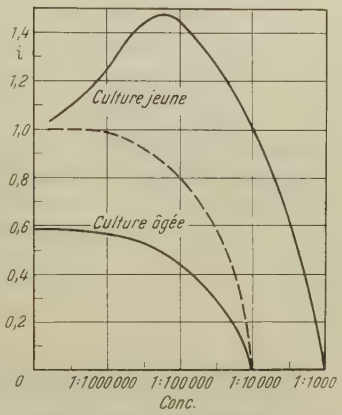


Fig. 2. Action du chloral sur des cultures jeunes et vieilles de cœur embryonnaire de poulet. En pointillé, la courbe absolue des cultures âgées.

Avec l'augmentation de l'âge, le maximum apparaît à des concentrations plus faibles de chloral, et sa valeur diminue. Comme s'abaisse également la dose d'inhibition totale.

L'explication de ces faits est fort simple en se rapportant à nouveau au schéma de Fischer, et admettant cette fois-ci que l'on alcalinise le milieu. Par élévation de leur p_H, les vieilles cultures vont d'emblée dans la zone à croissance moins favorisée. Les cultures jeunes au contraire, à p_H initial de 6,9, passent d'abord par l'optimum de 7,1—7,2, augmentant ainsi leur métabolisme avant de le réduire. Et comme les cultures jeunes sont, avec leur p_H de 6,9, plus éloignées de l'optimum que les vieux explantats, il s'ensuit que la valeur du maximum par alcalinisation est plus élevée que par acidification.

L'on pourrait donc admettre que les somnifères agissent sur la cellule par alcalinisation[1] de son milieu, ou tout au moins déterminent, dans la composition cytoplasmique, une modification analogue à celle produite par une élévation du p_H. Cette action serait donc exactement opposée à celle des toxiques, et l'on doit normalement pouvoir neu-

[1] Dans l'organisme total, on sait que les barbituriques abaissent le p_H sanguin, par inhibition du centre respiratoire.

traliser l'influence de l'une par addition de substances de l'autre groupe: nous en donnerons plus loin un exemple.

3. Stimulants.

Si l'on voulait comparer l'action du stimulant à un principe chimique, on ne pourrait mieux faire que de l'assimiler à un catalyseur, accélérant le rythme d'une réaction, sans y intervenir nécessairement par la composition de sa formule. L'activité cellulaire est ainsi multipliée; mais cette augmentation ne peut persister indéfiniment, car les déchets acides du catabolisme, dont le CO 2, produits eux aussi de façon accrue, viennent par leur action essentiellement inhibitrice[1] freiner, neutraliser, puis inverser l'influence du stimulant. La courbe des index de multiplication, aussi bien des explantats jeunes qu'âgés, s'élève donc, passe par un maximum, puis décroît jusqu'à couper l'axe des abscisses; cette phase ultime est donc comme pour les toxiques une hypofonction par acidose; elle en a du reste les caractères graphiques.

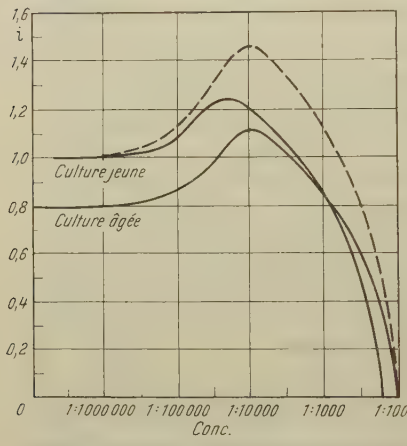


Fig. 3. Action de l'acetylcholine sur des cultures jeunes et vieilles de cœur embryonnaire de poulet. En pointillé, la courbe absolue des cultures âgées.

Une telle stimulation peut être obtenue par addition aux cultures d'acetylcholine à doses croissantes (Fig. 3).

L'on remarquera d'emblée que la dose d'acetylcholine nécessaire à fixer la cellule à son métabolisme maximum est nécessairement plus grande pour les cultures âgées, à activité plus ou moins réduite, que pour les explantats jeunes: 5:100'000 pour les uns, 10:100'000 pour les autres. Mais l'on notera surtout que la hauteur de ces maxima est différente: 1,23 pour les jeunes, 1,12 (relatif) pour les âgées. Cela tient aux rapports différents des potentiels de division et de fonction chez ces deux éléments. Reprenons les chiffres arbitraires déjà cités. Culture jeune: 18 (total) = 12 (division) + 6 (fonction). En présence de 5:100'000 d'acetylcholine, le métabolisme total atteindrait par exemple un maximum de 21, dont 14 de division et 7 de fonction. 10:100'000 d'acetylcholine font probablement atteindre aux cultures âgées le même maximum de métabolisme total, mais ces 21 ne comprendraient cette fois-ci que 10,5 de division, 10,5 également de fonction; pour un même total, division inférieure, mais fonction supérieure. Nous voulons, pour

[1] Exception faite d'une petite marge entre les p_H 7,3 et 7,1—7,2, où l'acidification contribue à l'augmentation du rythme de croissance.

preuve de l'égalité des maxima métaboliques, l'expérience suivante: des cultures jeunes sont abandonnées pour 48 heures à l'étuve à 35°. Dans ces conditions, leur pouvoir de division se réduit aux 0,78 (relatif) des vieux explantats. L'égalité n'embrasse naturellement ni le métabolisme total, ni celui de fonction. Si l'on ajoute alors de l'acetylcholine, l'on observe une ascension de la courbe, pour une concentration de 2:10'000, à un maximum de 1,22 (relatif), pratiquement analogue aux 1,23 des explantats non traités par le refroidissement.

Cela dit, les caractères essentiels du schéma sont que la courbe absolue des cultures âgées est située au-dessus de la courbe des explantats jeunes; que par conséquent la dose de stimulant nécessaire à inhiber complétement la croissance d'une cellule âgée est supérieure à celle indispensable à un jeune élément, et que la courbe relative des cultures âgées coupe donc toujours celle des cultures jeunes. Tous ces faits évoquent les propriétés des toxiques; mais, caractère propre aux stimulants, les deux courbes, jeune et vieille, présentent toujours un maximum. Au fur et à mesure que l'on a affaire à des tissus plus âgés, la valeur relative de ce maximum s'abaisse et se déplace vers des concentrations plus hautes de substance stimulante.

4. Inhibiteurs.

L' inhibition représente exactement l'opposé des stimulants, quelque chose que des chimistes caractériseraient comme une espèce de catalyseur négatif. Ces substances freinent le métabolisme et il est évident que la quantité de principe nécessaire à inhiber totalement une culture très active, parce que jeune, sera supérieure à celle indispensable pour de vieux éléments. D'où l'on conclura très aisément que la courbe des tissus jeunes sera toujours située au-dessus de celle absolue des explantats âgés et n'en coupera donc jamais la courbe relative. Propriétés qui évoqueraient les somnifères si l'on ne trouvait dans ce schéma qu'une chute régulière et jamais la moindre phase d'excitation. Nous avons ici laissé une large place à des considérations théoriques, faciles du reste à extrapoler des observations faites jusqu'à présent, car nous n'avons trouvé jusqu'à aujourd'hui aucune substance chimique réalisant cette formule. Seule la baisse de température dessine dans une certaine mesure une figure analogue (Fig. 4).

Dans une certaine mesure, car l'on ne considère en fait que l'envers du véritable problème, celui de la relation de la croissance avec la température, en général, aussi bien supérieure qu'inférieure à 39°. L'addition de calories est typiquement une action stimulante (Fig. 4), avec un maximum plus tardif et moins prononcé pour les cultures âgées, une température d'inhibition totale plus élevée pour les vieux (45°) que pour les jeunes (44°) éléments. L'optimum des vieux explantats est à 40°,

celui des jeunes à 39. Avec le rajeunissement, le maximum s'élève et se déplace vers des valeurs thermiques inférieures. L'on pourrait très bien supposer des cultures très jeunes, moins de dix jours, dont l'optimum de croissance serait aux environs de 37° (Fig. 4). Sur ces cas évidemment, la baisse de température à partir du 39° classique et immuable des explantats de poulet, donnerait naissance à une courbe ascendante puis décroissante, du type des somnifères, alors que le véritable inhibiteur, avec le rajeunissement de la culture, doit dessiner des courbes tendant de plus en plus vers l'horizontale. La baisse de température n'est donc un exemple valable d'inhibition que dans la mesure où les cultures envisagées ont dépassé l'âge de dix jours.

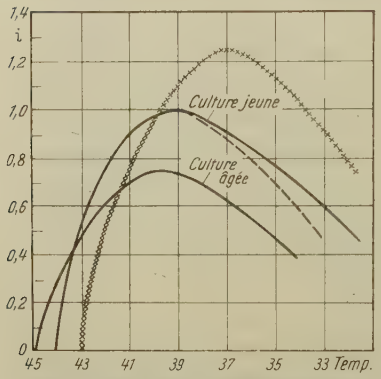


Fig. 4. Action de la température sur des cultures jeunes et vieilles de cœur embryonnaire de poulet. En pointillé, la courbe absolue des cultures âgées. En quadrillé, la courbe hypothétique d'une culture très jeune.

Remarque.

Il y a deux problèmes que sciemment nous n'avons pas voulu envisager dans ce travail, nous réservant de le faire dans une étude séparée. C'est d'une part l'action si complexe et particulière des différentes concentrations d'extrait; et d'autre part la réaction des cultures à l'addition ou au retrait de substances purement alimentaires, qui doit réaliser le cinquième et dernier type de courbe; un type à part, différant absolument des quatre modes envisagés jusqu'ici que l'on peut facilement comparer ou opposer les uns aux autres: antagonisme des toxiques et des somnifères, des stimulants et des inhibiteurs; parenté des toxiques, acidifiant, et des stimulants, des somnifères, alcalinisant, et des inhibiteurs. Ce dernier rapport est aisément compréhensible puisqu'un métabolisme accru accumule dans la cellule les ions H +, alors que sa réduction en élève le p_H.

Histamine et antihistaminiques.

L'on peut appliquer les données précédentes au problème de l'histamine et des antihistaminiques, avec des résultats fort intéressants. L'addition aux cultures d'antihistaminiques fait apparaître une réaction typique de somnifère. Les antihistaminiques, comme le chloral ou le barbital, agissent donc sur la cellule par alcalinisation du milieu cytoplasmique, ou tout au moins y déterminent une modification analogue à celle produite par abaissement du taux des ions H +. Nos études ont porté sur l'Antistine[1] (Ciba) et le Synopène[2] (Geigy).

[1] 2(N-phenyl-N-benzylaminomethyl)-imidazolin.
[2] N-Dimethylaminoäthyl-N-p-chlorbenzyl-L-aminopyridin.

Antistine	Tissu jeune	Tissu âgé	
		Courbe absolue	C. relative
0	1,0	1,0	0,72
1:1'000'000	1,07	0,97	0,7
1: 100'000	1,19	0,79	0,56
1: 10'000	0,6	0,22	0,15
	Max. de 1,23 à 5:1'000'000		

Dose d'inhibition totale de 1,5:10'000 chez les cultures âgées, de 3:10'000 chez les jeunes.

Le Synopène donne lui aussi une réaction de somnifère, où typiquement la courbe jeune présente un maximum et se situe au-dessus de la courbe absolue des cultures âgées. Un fait, par contre, très particulier distingue son influence: la chute brutale de la croissance que détermine l'addition de doses infimes de Synopène, 1:1'000'000 ou fortement inférieures, avec pour conséquence l'apparition paradoxale d'un maximum âgé.

Synopène	Tissu âgé	Tissu jeune	
		Courbe absolue	C. relative
0	1,0	1,0	0,7
1:1'000'000	0,73	0,43	0,3
1: 100'000	0,76	0,83	0,58
1: 10'000	0,16		
	Max. de 0,86 à 3,5:1'000'000		

Dose d'inhibition totale de 8:100'000 chez les cultures âgées, de 15:100'000 chez les jeunes, environ donc la moitié des doses mortelles d'Antistine, ce qui correspond aux notions thérapeutiques.

L'addition d'histamine (Imido, Roche) aux cultures donne par contre naissance à une réaction de toxique. L'histamine, comme l'alcool et le sublimé, comme les microbes pathogènes, comme plus généralement peut être toute cause inflammatoire, agit sur la cellule par acidification, ou tout au moins déterminerait dans la structure cytoplasmique une modification analogue à celle produite par accroissement du taux des ions H+. On retrouve toutefois dans cette courbe le même paradoxe, inversé, que l'on a observé pour le Synopène. Cet antihistaminique détermine, on l'a vu, une chute brutale de la croissance, puis une réaction typique de somnifère. L'histamine provoque, à doses infimes de 1:10'000'000 ou fortement inférieures, un accroissement brutal de la croissance (ce que ne produit jamais un stimulant), puis les concentrations croissant, une réaction typique de toxique: chute lente et régulière de la courbe jeune, courbe absolue des cultures âgées présentant un maximum et se situant au-dessus de la courbe jeune. Le double para-

doxe s'explique par une influence élective de la substance sur le mode de croissance, sur la vitesse de migration. L'addition en effet d'histamine à des doses infimes ne touche pas le coefficient mitotique, mais suffit à augmenter fortement la vitesse de migration, rendant la croissance plus lâche et plus large. Le Synopène réduit au contraire le rythme de migration: la croissance est plus dense, moins étendue.

Histamine	Tissu jeune	Tissu âgé	
		Courbe absolue	C. relative
0	1,0	1,0	0,79
1:10'000'000	1,38	1,43	1,17
1: 1'000'000	1,31	1,63	1,28
1: 100'000	1,23	1,68 (Max.)	1,32
1: 10'000	1,10	1,64	1,29

Histamine et antihistaminiques exercent donc sur la cellule des influences exactement contraires. Le principe thérapeutique d'un antihistaminique se ramène ainsi à une »alcalinisation« d'un milieu »acidifié« par l'histamine. Il n'y a pas de neutralisation au sens chimique du terme, il n'y a que l'addition de deux forces de direction opposée. Ainsi s'explique le fait que les antihistaminiques ne puissent modifier le taux sanguin de l'histamine. Les antihistaminiques, de façon plus générale tout le groupe des somnifères, apparaissent par conséquent, tout au moins en culture de tissu, comme la thérapeutique idéale et physiologique de tous les états »toxiques«. Nous en voulons pour preuve la rapide neutralisation, grâce à l'addition d'Antistine à des cultures de tissu, d'une intoxication alcoolique grave. Il s'agissait de cultures jeunes où 10% d'alcool réduisait l'index de multiplication de 1,0 à 0,14. Si l'on ajoute à ces cultures en hypofonction prononcée des doses croissantes d'Antistine, l'on observe qu'à 1:1'000'000 l'indice est déjà de 0,72, qu'à 3:1'000'000 la culture a retrouvé un rythme de croissance analogue à celui des contrôles: toute l'action toxique de l'alcool a été ainsi neutralisée. En continuant à augmenter la dose d'Antistine, l'on voit se développer la courbe typique des somnifères sur des cultures jeunes, et ses valeurs se confondent pratiquement, aux 3:1'000'000 près nécessaires à la neutralisation de l'alcool, avec la courbe des cultures normales en présence d'Antistine. Maximum de 1,23 à 8:1'000'000, inhibition totale à 3:10'000. On rapprochera de cette observation la neutralisation, utilisée en thérapeutique, de l'intoxication barbiturique par injection d'alcool.

Si l'on admet que le processus inflammatoire se ramène en définitive, comme nous l'avons vu plus haut, à une »acidose« des éléments lésés, le groupe des somnifères, dont les antihistaminiques, représenterait théoriquement un traitement physiologique des états inflammatoires, en tout cas non infectieux, et non seulement de ceux causés par l'histamine. Nous sortons en effet les infections de ce groupe, n'ayant pas eu l'occasion

d'étudier, sur les microorganismes, l'action, que l'on dit en général bactériostatique (D'Ermo et Salvi, 1951; Landis et Krop, 1951), des corps du groupe somnifère.

Ces propriétés antiinflammatoires justifieraient l'influence favorable des antihistaminiques dans les cas par exemple de piqûre d'insecte, de rhinite non allergique, de gastrite œdémateuse, de toxicose gravidique, dans les cas aussi de chemosis provoqué chez le lapin par l'huile de moutarde (Gross et Meier, 1948), sans que l'on doive nécessairement admettre, dans toutes ces lésions, comme le voudrait Swyer (1948) une quelconque intervention de l'histamine, sans non plus devoir ramener l'action des antihistaminiques à une imperméabilisation de la paroi vasculaire (Halpern et Cruchaud, 1948). L'épreuve à l'huile de moutarde est du reste de ce point de vue très intéressante, car elle a montré, entre les mains de Gross et de Meier (1948), que c'était le corps diminuant le plus la perméabilité vasculaire, la rutine, qui avait la plus petite influence sur l'évolution du chemosis. Fait très intéressant, la gravité des symptômes peut par contre être diminuée par utilisation d'antipyrine, de quinine, de morphine (Groll, 1921; Richer et Regendanz, 1921), d'anesthésiques locaux, corps dont l'action sur le système nerveux évoque d'emblée les propriétés sédatives du groupe des somnifères; et l'on pourrait se demander s'ils n'agissent pas eux aussi par »alcalinisation« du milieu cellulaire, hypothèse qui sera pour nous le point de départ d'une série de recherches sur l'animal; et cela expliquerait fort bien l'influence favorable des anesthésiques locaux sur le chemosis du lapin, provoqué expérimentalement par l'histamine (Payot, 1946).

L'inactivité bien connue des antihistaminiques sur les affections du type eczéma, dermatite exfoliative, gastro-entérite et agranulocytose allergiques, migraine, leur faible influence sur l'asthme humain, restent, nous devons l'avouer, dans nos conclusions actuelles, absolument inexplicables.

L'appartenance par contre des antihistaminiques au groupe des somnifères permet de justifier la plupart de leurs propriétés pharmacologiques. L'action de ces substances se caractérise, nous l'avons dit, par une alcalinisation du milieu cytoplasmique. Sur de cellules humaines dont le p_H usuel est en général supérieur à l'optimum de 7,1—7,2, cette évolution se traduit par une réduction de leur métabolisme: l'action est en principe une action sédative.

Sédation du système nerveux central: L'utilisation thérapeutique des antihistaminiques entraîne en général des manifestations secondaires de lassitude et de somnolence. Ils renforcent l'action hypnotique des barbituriques (Winter, 1948) dont l'influence sur la cellule est en principe la même. Ils exercent enfin une action favorable sur les symptômes de la maladie de Parkinson.

Sédation du système nerveux périphérique; et ainsi se justifie l'action bloquante de nombreux antihistaminiques sur le nerf vague excité électriquement (Heim et Bänder, 1951), les propriétés anesthésiques locales du phénergan et de l'antistine par exemple. L'on sait, à l'inverse, que les anesthésiques locaux, cocaïne, novocaïne, percaïne (Frommel, Favre et Valette, 1947; Landau, Nelson et Gay, 1951) jouissent de propriétés antihistaminiques.

Cette action sédative permet enfin d'expliquer facilement la neutralisation par les antihistaminiques (Erspamer et Paolini, 1948) de l'action des drastiques, salep ou huile de ricin, sans devoir prétendre que ces corps agissent sur l'intestin par libération d'histamine.

Le problème du spasme musculaire est du reste très intéressant. L'on sait que les antihistaminiques réduisent facilement le spasme à l'histamine et, à doses seulement 100 fois plus élevées, celui à l'acetylcholine. Or le mécanisme de ces spasmes est différent. L'acetylcholine appartient au groupe des stimulants; elle agit sur la cellule par augmentation catalytique du métabolisme; l'abaissement du p_H est secondaire, toujours très accentué, le maximum des courbes de stimulant correspondant à un p_H inférieur à 7,0. L'histamine agit par acidification; la baisse du p_H est ici le fait primaire; elle est modérée, car le maximum, on l'a vu, des courbes toxiques se situe à l'optimum de 7,1—7,2; l'accroissement du métabolisme n'est qu'un fait secondaire. Les antihistaminiques neutralisent par leur pouvoir alcalinisant les deux chutes de p_H, et d'autant plus facilement que cette chute était plus faible.

L'on sait enfin que les antihistaminiques sont incapables de freiner l'hyperchlorhydrie gastrique déclanchée par injection d'histamine. Ce fait est dû peut-être à un paradoxe de l'action histaminique. L'histamine stimulant en effet une sécrétion fortement acide, tend donc, en faisant perdre à la cellule de façon massive des ions H+, à une alcalinisation du milieu; évolution opposée à son influence habituelle et évolution de même sens que celle produite par les antihistaminiques. D'où l'inactivité probable de ces corps.

Résumé.

L'action de principes étrangers, physiques ou chimiques, sur la cellule en culture peut se ramener à quatre types: 1. Acidifiant du milieu cellulaire. 2. Alcalinisant. 3. Stimulant, se comportant comme un catalyseur positif. 4. Inhibiteur, jouant le rôle d'un catalyseur négatif.

L'histamine appartient au premier groupe, les antihistaminiques au deuxième. La neutralisation par les antihistaminiques des effets de l'histamine se ramène à une alcalinisation par les antihistaminiques d'un p_H cellulaire acidifié par l'histamine.

Bibliographie.

Brock, N., Druckrey, H. et Herken, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **193**, 679 (1939). — Bucher, O.: Z. Zellforschg **29**, 283 (1939); **30**, 438 (1940). — J. suisse de médecine **75**, 175 (1945); **77**, 1929 (1947). — Rev. suisse de Zoologie **52**, 535 (1945). — Bull. d'Histol. appl. **25**, 190 (1948). — Helvet. Physiol. Acta **7**, 37 (1949). — Sang **21**, 382 (1950). — Carrel, A.: C. Soc. Biol. Paris **90**, 333 (1924). — Dustin, A. P.: Arch. exper. Zellforschg **22**, 395 (1938). — d'Ermo, F., et G. L. Salvi: Boll. Ocul. **1951** no 1. — Exspamer, V., et A. Paolini: Arch. internat. Pharmacodynamie **77**, 415 (1948). — Fischer, A.: Gewebezüchtung 508 pp. München: Rudolph Müller u. Steinicke. 1927. — Frommel, E., M. Favre et F. Valette: Arch. internat. Pharmacodynamie **73**, 355 (1947). — Groll, H.: Münch. med. Wschr. **28**, 869 (1921). — Gross, F., et R. Meier: Exper. **4**, 400 (1948). — Haas, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **197**, 284 (1941). — Halpern, B. N., et N. S. Cruchaud: Exper. **4**, 35 (1948). — Heim, F., et A. Bänder: Arch. exper. Path.

u. Pharmakol. **213**, 185 (1951). — Landis, L., et S. Krop: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **76**,538 (1951). — Landau, S. W., W. A. Nelson et L. N. Gay: J. Allergy (USA) **22**, 19 (1951). Lettre, H.: Ergeb. d. Enzymforsch. **10**, 269 (1949). — Strahlentherapie **83**, 1 (1950). — Lettre, H., u. M. Albrecht: Z. physiol. Chemie **271**, 200 (1941). — Mayer, E.: Arch. exper. Zellforschg **10**, 221 (1931). — von Moellendorff, W.: Arch. exper. Zellforschg. **21**, 1 (1937). – Z. Zellforschg. **27**, 301 (1937). — Klin. Wschr. **18**, 1098 (1939). J. suisse de médecine **71**, no 11, 1941. — Muhlethaler, J. P.: Anat. Anz. **98**, 394 (1952). — Parker, R. C., J. F. Morgan et H. J. Morton.: J. cell. comp. Physiol **36**, 411 (1950). — Payot, P.: Ophtalmologica **112**, 25 (1946). — Richer, G., P. Regendanz: Virchows Arch. **231**, 1 (1921). — Swyer, G. J. M.: Biochemic. J. **42**, 28 (1948). — Winter, C. A.: J. of Pharmacol (USA) **94**, 7 (1948).

Dr. J.-P. Muhlethaler,
Anatomisches Institut der Universität Bern (Schweiz), Bühlstr. 26.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 256—263 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Graz
(Vorstand: Prof. Dr. Hans F. Häusler).

Zur Frage der zentralen Übertragung afferenter Impulse.

II. Mitteilung: Exzitantia, Acetylcholin, Adrenalin*.

Von

H. Sterz.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Juli 1952.)

Während sich in dem seit Loewis[1] Entdeckung vergangenen Menschenalter die Frage der Überträgersubstanzen von motorischen Nervenreizen in der Peripherie weitgehend geklärt hat (vgl. v. Muralt[2]) und die von Dale[3] vorgeschlagenen Bezeichnungen „cholinerg" und „adrenerg" bereits in den Lehrbüchern zu finden sind, herrscht noch keineswegs Einigkeit oder auch nur Klarheit über die Natur „sensibler Substanzen" bzw. der zentralen Übertragung. Loewi selbst hatte mit Hellauer[4] die sensiblen Rückenmarkswurzeln acetylcholinfrei gefunden und der letztere hatte zusammen mit Umrath[5, 6] Extrakte dorsaler und ventraler Rückenmarkswurzeln und sie abbauender Fermente am entnervten Kaninchenohr untersucht, wobei sie die Beteiligung von Histamin und Acetylcholin ausschließen konnten, während Ungar[7] und Kwiatkowski[8] die Hinterwurzeln als „histaminerg", Bülbring und Burn[9] als „cholinerg" angesprochen und Feldberg und Vogt[10] für die motorischen und sensiblen Bahnen im Zentralnervensystem sowohl cholinerge als auch nichtcholinerge Anteile postuliert hatten. Durch photoelektrische Messungen haben Häusler und Hellauer[11] die über einen Axonreflex gesteuerte Capillarerweiterung im Kaninchenohrtest quantitativ erfaßt, wenngleich ihnen der prinzipielle Einwand der dieser Methode fehlenden Spezifität bewußt war. Dieser Mangel[12] mag Florey[13] zu seinem Bienentest angeregt haben, der freilich auch nicht eindeutig ist, und hat uns zur Durchführung folgender Überlegung veranlaßt.

Woferne auch afferente Impulse substantieller Natur sind, müßte sich durch Übertragung der Kibjakowschen[14] Versuchsanordnung, die bekanntlich[15] Acetylcholin als die Überträgersubstanz an intermediären vegetativen Ganglien hatte erkennen lassen, auf das Rückenmark von Batrachiern dort jene „sensible Substanz" auffinden lassen, welche

* „I. Mitt.: Histamin" von Hans F. Häusler und Heinz Sterz, Jl. of the Mt. Sinai Hosp. (New York) **19**, 121 (1952): Ernst P. Pick Anniversary Volume.

bei Reizung etwa der afferenten Anteile des Nervus ischiadicus die „Reflexübertragung" auf motorische Vorderhornganglienzellen bewirkt. Wir haben zu diesem Zweck nach Ligierung des rechten ductus arteriosus und Unterbindung der art. occipitalis sin. und art. subclavia sin. in den linken ductus acorticus (knapp nach dem Abgang des ductus caroticus und des ductus pulmocutaneus und nach Unterbindung seines Stammes vor seiner Vereinigung mit dem der anderen Seite) eine Kanüle eingebunden, mit anderen Worten von der Unterbindung nur die art. vertebralis sin. ausgenommen, welche das Hauptversorgungsgefäß des Rückenmarks darstellt.

Wegen der längeren Zeitdauer und sonstiger Schwierigkeiten dieser Präparation, z. B. hinsichtlich der Wiedergewinnung des Rückenmarksperfusates an einer bestimmten Stelle durch eine vom Rückenmark kommende Vene, sind wir jedoch bislang weder bei unseren Fröschen noch bei den widerstandsfähigeren Kröten zu einer brauchbaren Versuchsanordnung gekommen; doch werden diese Bemühungen im Institut fortgesetzt. Inzwischen haben wir einen anderen, einfacheren Weg beschritten, wobei das Rückenmark in seiner natürlichen Umhüllung umspült und die den Subduralraum von der Dekapitationsöffnung durchfließende Perfusionslösung am unteren Ende der durchschnittenen Wirbelsäule gesammelt werden konnte; diese Methode erscheint für mehrere Zwecke geeignet, z. B. kann einerseits ein Rückenmarksperfusat von über die hinteren Wurzeln gereizten Tieren gewonnen werden (Präparat I), andrerseits dieses an einem II. (Test-) Präparat ebenso geprüft werden, wie an diesem der Einfluß in der Perfusionsflüssigkeit enthaltener bzw. in sie injizierter Substanzen untersucht werden kann. So wurde in der I. Mitt.[16] gezeigt, daß anders als bei allen anderen bisher untersuchten Pharmaka, worüber im folgenden berichtet werden soll, nur bei Durchspülung mit Histamin motorische Wirkungen auftraten derart, daß es bei allen untersuchten Konzentrationen zum sofortigen Auftreten von Spontanzuckungen kam, an die sich bei höheren Histamindosen eine Kontraktur anschloß, während welcher die kontralateral-elektrisch ausgelösten Reflexe fast völlig erloschen. Diese motorischen Wirkungen glichen durchaus den an einem II. (Test-) Präparat geprüften, mit der aus einem sensibel gereizten Präparat I gewonnenen Perfusionsflüssigkeit erzielten; in dieser konnten zudem durch Prüfung am Meerschweinchendarm — in Abgrenzung gegenüber Acetylcholin (Resistenz gegen Atropin) sowie K-Ionen in Austestung gegenüber Dibendrin — Histamin bzw. histaminartige Stoffe nachgewiesen und quantitativ mit dem Durchspülungs-Histamineffekt verglichen werden, über dessen „ursächliche bzw. bedingungsmäßige Rolle bei der Übertragung sensibler Impulse" Herr Prof. Häusler noch berichten wird[17], weshalb eine Diskussion in dieser Mitteilung unterbleibt.

Die folgenden Versuche sollen die Brauchbarkeit dieser einfachen Methodik erweisen und u. a. das Nichtzurechtbestehen eines uns selbst gemachten Einwandes dartun, daß diese von uns verwendete Versuchsanordnung bei der langsam vor sich gehenden Perfusion etwa an O_2-Mangel kranke.

Methodik.

Bezüglich der Wahl des Tiermaterials sei vorweggenommen, daß Bufo vulgaris-Präparate widerstandsfähiger und langlebig sind, während Frösche eine lebhaftere Reflextätigkeit zeigen. Die im folgenden wiedergegebenen Kurven stammen ausschließlich von Rana esculenta; das Geschlecht der Tiere spielte keine Rolle,

männliche Frösche lassen sich wegen der fehlenden Eierstöcke leichter präparieren: Die in bekannter Weise mit einer Metallspitze erfolgende Dezerebrierung geschieht von einem in der Mitte zwischen den rückwärtigen Polen der beiden Ossa quadrata liegenden Punkte. In das Bohrloch wurde, nachdem vorher noch das untere Wirbelsäulenende aufgeschnitten worden war, von cranial her in den Wirbelkanal eine Metallkanüle eingebunden und an eine Mariottesche Flasche angeschlossen, welche etwa 20 cm über dem Präparat, dessen Durchströmungslänge ca. 15 mm beträgt, steht und pro Minute etwa 1—2 Tropfen durchfließen läßt. Nach Evisceration wird von einer zweiten, etwa 30 cm überhöhten Mariotteschen Flasche nach Läwen-Trendelenburg eine Beindurchspülung gemacht, um diese Erfolgsorgane sicher von der Rückenmarksperfusion zu trennen und ihre Ermüdung länger hinauszuschieben. Zu diesem Zwecke wurde der Ringer-Lösung (NaCl 0,6%, $CaCl_2$ 0,01%, KCl 0,01%, $NaHCO_3$ 0,1%) noch 0,2% Glucose zugesetzt, ohne welche es zu rascher abfallenden Kontraktionshöhen kam. Der Frosch wird dann mittels eines Hakens durch den Mandibularbogen auf einem Stativ aufgehängt, das linke an diesem festgebundene Bein an Knöchel und Wade mit je einer Elektrode versehen, wenn nicht der N. ischiadicus direkt gereizt wurde; das rechte Bein zeichnet mit einem isotonen Schreibhebel die kontralateral ausgelösten bzw. Spontanzuckungen auf einem Kymographion auf. Zur elektrischen Reizung wurden rechtwinkelig zerhackte Gleichstromstöße von je 1 sec Dauer verwendet, deren ca. 50—60 mA starke Einzelimpulse möglichst kurze Dauer und Distanz hatten; solche „faradische Gleichstromstöße" erfolgten in Abständen von 30 sec 5 mal hintereinander, dann wurde zur Verhinderung von Ermüdungserscheinungen eine Pause von 10 min eingeschaltet.

Die zu prüfenden Pharmaka haben wir zunächst aus einer weiteren Mariotteschen Flasche in gleicher Niveauhöhe von ca. 20 cm zugeführt, die mit einem unmittelbar über der Wirbelkanalkanüle angebrachten T-Stück verbunden war und wahlweise eingeschaltet werden konnte. Da jedoch auf diese Weise bei der sehr langsamen Rückenmarksperfusion zu viel Zeit auf Kosten des im Sommer höchstens 2—3 Std verwendbaren Präparates verloren ging, entschlossen wir uns, in den folgenden Versuchen die Substanzen in ein unmittelbar über der Kanüle eingeschaltetes Zwischenstück zu injizieren, nachdem wir uns in vielen Vor- und Zwischenversuchen überzeugt hatten, daß die Injektion von 1 cm^3 Ringer-Lösung zu keiner Druckänderung führt und sich auch sonst in der Reaktionsweise des Präparates nichts ändert. Diese Menge wurde gewählt, weil der „tote Raum" zwischen der Injektionsstelle im Schlauchsystem bis zur Kanülenspitze mit 1,15 ml ermittelt wurde. Der durchflossene Subduralraum-Spalt betrug bei unseren Fröschen, wie Ausmessungen des Wirbelkanals mittels Quecksilber nach dem Versuchsende unter Berücksichtigung des Volumens des vorher entfernten Rückenmarks ergaben, 0,02 $\pm$ 10 %ml pro 15 mm Wirbelsäulenlänge des Präparates, so daß von der injizierten Stelle bis zum Abtropfpunkt aus dem aufgeschnittenen Wirbelsäulenende im Durchschnitt 1,17 ml Gesamtvolumen resultiert. Daraus läßt sich unter Berücksichtigung des jeweiligen Abtropfvolumens und der injizierten Pharmakonmenge dessen Konzentration während der Umspülung des Rückenmarkes gut abschätzen, worauf bei der Besprechung der Strychninversuche hingewiesen werden soll. Die Pharmakamengen sind stets als freie Base angegeben, während selbstverständlich die entsprechenden Salze verwendet wurden.

Ergebnisse.

1. Exzitantia.

Strychnin (nitrat): In Abb. 1 ist die Wirkung von 0,01 μg Strychnin (injiziert in 1 cm^3 Ringerlösung), eingerahmt zwischen einer Vorperiode

ohne Strychnin und Nachperioden nach dem Abklingen der Strychninwirkung, dargestellt: Das (rechte) Reflexbein, welches vorher jeden der 5 kontralateralen Stromstöße mit einer Kontraktion gleicher Höhe beantwortet hat, zeigt unter Strychnin auf jeden am linken Bein applizierten Reiz 3—4 Kontraktionen, deren Amplitude sofort auf das 3fache erhöht ist. Bei Injektion von 0,001 μg Strychnin war kein Effekt aufgetreten, bei 0,1 μg kam es zu sehr hohen Zuckungen, aber das Präparat versagte bald. Bei 1 μg erfolgten nur 2—3 Zuckungen und dann war der Frosch irreversibel gelähmt, indem auch nach 2 Std keine Erholung mehr auftrat. Die in der Abb. 1 gezeigte Wirkung trat, wenn wir uns mit einer rohen Übersichtsrechnung begnügen wollen, bei 0,01 μg in 1 cm^3

Abb. 1. † Strychnin 0,01 μg.

Lösung, also bei einer Konzentration von 1 μg% auf, mit anderen Worten bei einer Strychninverdünnung von 1:100000000, während die klassische lokale Betupfung bzw. Bepinselung des Froschrückenmarks mit so hohen Strychninkonzentrationen wie 1:100 bis 1:1000 erfolgt war: So hatten bekanntlich Houghton u. Muirhead[18] die Armnervenursprungsstellen mit 1% Strychninlösung betupft; sie sahen danach einen generellen Starrkrampf auftreten, als sie eine vordere Extremität berührten, und auch die späteren Forscher, die sich dieser Methode bedienten[19, 20, 21, 22], gingen nicht über die Konzentrationen von 1:1000 hinaus, wobei sie meistens einen allgemeinen Tetanus erzielten. Auch wir konnten bei so hohen Konzentrationen wie etwa 1:100000 sofort, d. h. ohne elektrische Reizung, wohl auf die unvermeidlichen Erschütterungen einsetzende Tetani beobachten, während es bei der Konzentration der Abb. 1 keineswegs zu Krämpfen, sondern lediglich zu Reflexhäufungen und Hubhöhensteigerungen kam.

Pikrotoxin (hydrochlorid): 0,01 μg zeigte, wie aus Abb. 2 ersichtlich ist, eine strychninähnliche, wenn auch nicht so ausgesprochene Wirkung: Auf einen Stromstoß traten 1—2 Zuckungen auf und deren Höhe

erreichte nicht so hohe Ausmaße. Die quantitativen Verhältnisse bei benachbarten geringeren bzw. höheren Zehnerpotenzen glichen den beim Strychnin geschilderten.

Pervitin (hydrochlorid) führte, wie die Abb. 3 zeigt, zwar ebenfalls zu einer Steigerung der Hubhöhen, allerdings nur auf das 1½ bis 2fache, und es war dazu die Injektion von 10 μg 1-Phenyl-2-aminopropan nötig. Wir zeigen diese Versuche, weil ein Einfluß von Weckaminen auf das Rückenmark noch nicht bekannt ist, wenn man nicht die Beobachtungen an Zitterkäfigtieren[23] dahin deuten will, daß hierbei auch die unwillkürlichen Erregungsabläufe über die kurzen Reflexbogen des Rückenmarks gesteigert sind. Klinische Beobachtungen[24], wonach eine Steigerung unbewußter Arbeitsleistungen beim Menschen nach Pervitingebrauch auftritt, könnten durch die hier geschilderten Versuche eine experimentelle Deutung finden.

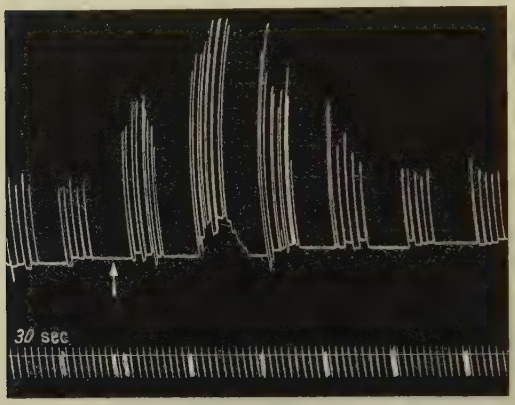


Abb. 2. † Pikrotoxin 0,01 μg.

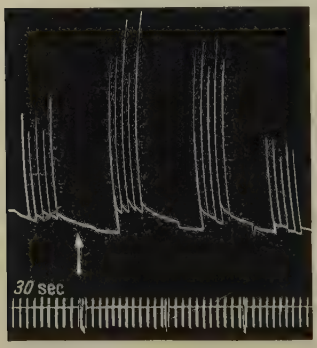


Abb. 3. † Pervitin 10 μg.

2. Acetylcholin(chlorid).

Nach der Injektion von 10 μg Acetylcholin kam es, wie Abb. 4 zeigt, zu einer deutlichen Steigerung der Hubhöhen, ohne daß eine Reflexhäufung wie beim Durchfluß von Strychnin oder Pikrotoxin auftrat. Nach Abklingen dieses Effektes wurde die Ringerlösung der Mariotteschen Flasche auf eine Eserinkonzentration von 1 : 250000 gebracht, welche selbst keine Wirkung zeigte, aber auf die gleiche Acetylcholinkonzentration die Hubhöhe auf das 9—10fache ansteigen ließ, eine Wirkungssteigerung, die sich aus den heute gültigen Anschauungen über den Wirkungsmechanismus des Eserins erklärt. In diesem Zusammenhang möchten wir auf Beobachtungen von Bülbring u. Burn[25] hinweisen, welche am rückenmarkperfundierten Hund nach Zusatz von 200 μg Acetylcholin zur Perfusionsflüssigkeit eine Steigerung der Reflextätigkeit beobachteten. Bei Injektion von nur 1 μg Acetylcholin zeigte sich nur eine schwache, nicht überzeugende

Wirkung, bei 100 μg glich das Wirkungsbild dem auf Abb. 4 nach Eserin aufgetretenen, bei noch höheren Mengen kam es bereits zu einer Vergiftung, indem nach 2 bis 3 Zuckungen das Präparat zu arbeiten aufhörte und nicht mehr auszuwaschen war.

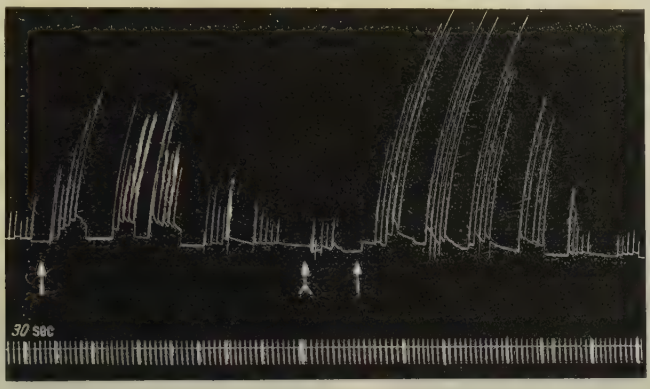


Abb. 4. † Acetylcholin 10 μg, ⚸ Eserinringer.

3. Adrenalin(hydrochlorid) und Noradrenalin(hydrochlorid).

Nach den eben erwähnten Versuchen von Bülbring u. Burn [25] hatten wir erwartet, daß das Präparat auch nach Adrenalin gewisse Wirkungen erkennen lassen würde. Abb. 5 zeigt aber, daß Adrenalin in dem Bereich

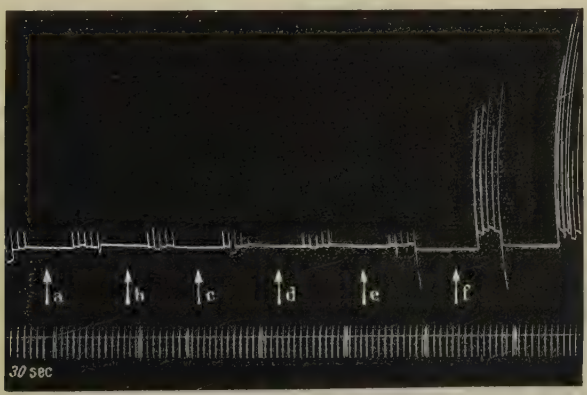


Abb. 5. † a) Adrenalin 0,01 μg, † b) Adrenalin 0,1 μg, † c) Adrenalin 1,0 μg, † d) Adrenalin 10,0 μg, † e) Adrenalin 100,0 μg, † f) Strychnin 0,01 μg.

von 0,01 μg bis zu der enormen Menge von 100 μg keinen Einfluß auf die kontralateral ausgelöste Reflextätigkeit ausübt, wobei jedoch das Präparat aktionsfähig blieb, wie die aus der Abb. 5 ersichtliche nachherige Prüfung mit 0,01 μg Strychnin ergab. Ebensowenig zeigte sich

ein Effekt nach der Injektion von Noradrenalin, dessen Kurve der Abb. 5 fast völlig gleicht, weshalb sich eine Wiedergabe erübrigt.

4. Histamin (dichlorhydrat).

Gegenüber allen bisher untersuchten Substanzen treten, wie bereits in der Einleitung erwähnt, auf Injektion von Histamin (auch ohne elektrische Reizung des linken Beines) Spontanzuckungen des (rechten) Registrierbeines auf. Während die angeführten Pharmaka die Wirkung der kontralateralen Reizung steigerten (oder, wie bei der adrenergen Gruppe, unbeeinflußt ließen), kam es bereits auf 0,0001 μg Histamin, wie aus Abb. 6 zu ersehen ist, nach den Spontanzuckungen unter

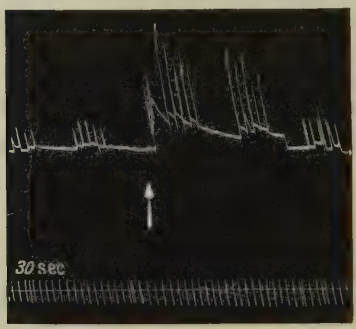


Abb. 6 ↑ Histamin 0,0001 μg.

Abb. 7. ↑ Histamin 0,01 μg.

Tonuserhöhung zu größeren Hubhöhen, ähnlich wie das für 0,001 μg Histamin in der I. Mitteilung gezeigt wurde. Neuerlich konnten wir ferner bestätigen, wofür wir die Abb. 7 als weiteren Beleg bringen, daß die höhere Histamindosis von 0,01 μg, welche ebenfalls zunächst Spontanzuckungen hervorruft, zu einer Kontraktur der Beinmuskulatur führte; solange diese bestand, zeigte die Prüfung der kontralateral ausgelösten Reflextätigkeit deren nahezu völliges Erlöschen während der etwa 60 min, da diese größere Histaminkonzentration das Rückenmark umfloß; das nachherige normale Wiederauftreten der kontralateralen Reflexe liefert den Beweis für die Intaktheit des Präparates.

Zusammenfassung.

Es wird die Brauchbarkeit einer einfachen, für die Untersuchung auf zentrale Überträgersubstanzen geschaffenen Perfusionsmethode des Subduralraumes des Froschrückenmarks durch die Prüfung mit Strychnin, Pikrotoxin, Pervitin, Acetylcholin (mit und ohne Eserin), Adrenalin und Noradrenalin gezeigt und auf die nach Histamin auftretenden Spontanzuckungen bzw. Tonuserhöhungen (bei gleichzeitigem Erlöschen der Reflextätigkeit unter höheren Konzentrationen) erneut hingewiesen.

Literatur.

[1] Loewi, O.: Pflügers Arch. **189**, 239 (1921). — [2] Muralt, A. v.: „Die Signalübermittlung im Nerven", Basel, E. Birkhäuser, 1943. — [3] Dale, H. H.: J. of Physiol. **80**, 10 (1933/34). — [4] Loewi, O., u. H. Hellauer: Pflügers Arch. **240**, 769 (1938). — [5] Hellauer, H. F., u. K. Umrath: Pflügers Arch. **249**, 619 (1948). — [6] Umrath, K., u. H. F. Hellauer: Pflügers Arch. **250**, 737 (1948). — [7] Ungar, G.: C. r. Soc. Biol. Paris **118**, 620 (1935). — [8] Kwiatkowski, W.: J. of Physiol. **102**, 32 (1943). — [9] Bülbring, E., u. J. H. Burn: J. of Physiol. **101**, 224 (1942). — [10] Feldberg, W., u. M. Vogt: J. of Physiol. **107**, 372 (1948). — [11] Häusler, H. F., u. H. F. Hellauer: Wien. Med. Wschr. **100**, 40 (1950). — [12] Holton, P., u. W. L. M. Perry: J. of Physiol. **114**, 240 (1951). — [13] Florey, E.: Z. vergl. Physiol. **33**, 327 (1951) und Pflanzenschutzberichte **7**, 81 (1951). — [14] Kibjakow, A. W.: Pflügers Arch. **232**, 432 (1933). — [15] Feldberg, W., u. J. H. Gaddum: J. of Physiol. **80**, 12 (1933/34); **81**, 305 (1934). — [16] Häusler, H. F., u. H. Sterz: J. of the Mt. Sinai Hosp. (N. Y.) **19**, 121 (1952). — [17] Häusler, H. F.: Vortrag auf der 19. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft (Göttingen 5. 8. 1952). — [18] Houghton, E. H., u. A. L. Muirhead: Med. News 1895. — [19] Baglioni, S.: Arch. f. Anat., Abt. 1900 (Suppl. Bd.) S. 193. — [20] Dusser de Barenne: Fol. neurobiol. **4**, 467 (1910); **5**, 42 u. 342 (1911); **6**, 277 (1912). — [21] Fröhlich, A., u. H. H. Meyer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **79**, 55 (1916). — [22] de Boer, S.: Arch. exper. Path. u. Pharmak. **97**, 30 (1923). — [23] Schulten, J. W., M. L. Tainter u. Dille: Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **42**, 242 (1939). — [24] vgl. z. B. Brauner, F., u. V. Lachnit: Wr. Z. inn. Med. **31**, 427 (1950). — [25] Bülbring, E., u. J. H. Burn: J. of Physiol. **100**, 337 (1941).

Dr. H. Sterz, Graz (Österreich), Pharmakol. Institut der Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 264—273 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. F. Eichholtz).

Über die Wirkung der Analeptica bei Atmungslähmung durch Erstickung und Entblutung.

Von

Hans Waltz und Roland Taugner*.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juli 1952.)

Die analeptische Wirkung von Cardiazol, Coramin, Coffein, Pervitin und Lobelin bei reversibler narkotischer Lähmung der Atmung oder bei anderen leichteren Formen der Anoxie ist gründlich durchuntersucht, ihr therapeutischer Nutzen hier unumstritten (Hildebrandt, Hildebrandt, Killian u. a.).

Zweifelhaft ist dagegen die Zweckmäßigkeit dieser Analeptica bei extremen anoxischen Zuständen, die durch Erstickung und Blutverluste zustandekommen. Nach Koeppen sowie Lendle u. Lü sind Cardiazol, Coramin und Lobelin bei Erstickung bzw. CO-Vergiftung wirkungslos. Von klinischer Seite wird die Anwendung der Analeptica auch bei schwersten Barbitursäurevergiftungen als unter Umständen schädlich abgelehnt: Die Analeptica sollen hier nach einer vorübergehenden Steigerung zu einer langanhaltenden Abnahme des O_2-Verbrauchs der geschädigten Zentren führen (vgl. Nilsson u. Eyrich). Blood u. D'Amour haben demgegenüber kürzlich über eine lebensrettende Wirkung der Analeptica im Atmungsstillstand nach N_2-Beatmung an Ratten berichtet.

Bei der praktischen Wichtigkeit dieses Problems schien es notwendig, die obigen zentralen Analeptica unter derart extremen Bedingungen an einem größeren Tiermaterial erneut zu untersuchen. Die Wirkung dieser Stoffe bei Atmungs- und Kreislaufversagen infolge Erstickung und Entblutung sollte mit dem Effekt der künstlichen Beatmung bzw. mit den Maßnahmen zur Wiederauffüllung des Kreislaufs verglichen werden.

Mit dem innervierten Zwerchfellstreifen der Ratte (Eichholtz u. Taugner) stand uns dabei eine Methode zur Verfügung, welche eine einwandfreie mechanische Registrierung der Tätigkeit des Inspirationszentrums erlaubt.

* Stipendiat der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft.

Versuchsanordnung.

Zur Verwendung kamen 260 weiße Ratten (Gewicht 200—300 g) in Avertinnarkose (30 mg/100 g). Die Blutdruckregistrierung erfolgte mit Hilfe eines Quecksilbermanometers über die A. carotis. Das Manometersystem war mit Na-Citratlösung gefüllt. Nach Beendigung der Präparation erhielten die Tiere 125 i. E. Heparin als Anticoagulans. Ausreichende künstliche Luftbeatmung erfolgte mit Hilfe eines neuen, von Mechaniker Fassnacht ersonnenen Modells des Pharmakologischen Instituts über eine Trachealkanüle während der gesamten Versuchsdauer.

Die Präparation des Zwerchfellstreifens erfolgte nach den Angaben von Eichholtz u. Taugner. Es wurde lediglich auf die Zwerchfellnaht verzichtet.

I. v. Injektionen erfolgten über Kanülen, welche in die Schwanzvenen der Tiere eingebunden waren (Lösungsvolumen maximal 0,2 cm^3/100 g, Injektionszeit 3 sec).

Die Entblutung wurde an der 2. Carotis mit Hilfe einer Metallkanüle (Größe 1) vorgenommen. Die Wiederauffüllung des Kreislaufs erfolgte durch Reinfusion des entnommenen Blutes bzw. durch Infusion der entsprechenden Mengen Dextran (6%), Periston (4,5%) oder der doppelten Menge Tyrodelösung in die Schwanzvenen der Tiere.

Erstickung.

Versuche mit akuter Asphyxie wurden an 144 Ratten durchgeführt. Die Erstickung erfolgte durch einfaches Verschließen der Trachealkanüle. 12 Tiere dienten als Kontrollen. Mit geringen Abweichungen waren die Reaktionen von Blutdruck und Atmung bei diesen entsprechend Abb. 1 und 2 typisch.

Während der Erstickung kam es zu den bekannten Blutdruckreaktionen: 1. Vorübergehender, steiler Blutdruckanstieg mit Beschleunigung der Herzfrequenz; 2. erneuter Anstieg des Blutdrucks mit Bradycardie infolge Reizung des Herzhemmungszentrums; 3. terminaler Blutdruckabfall.

Die Kontraktionen des isolierten Zwerchfellstreifens gaben die Stadien der asphyktischen Atmungslähmung wieder: 1. Hyperpnoe[1], synchron mit dem ersten Blutdruckanstieg; 2. Präterminale (1.) Apnoe, deren Beginn etwa mit dem der Bradycardie zusammenfällt; 3. Terminale Schnappatmung; 4. Terminale (2.) Apnoe, beginnend etwa zur Zeit des terminalen Blutdruckabfalls. Eine strenge Koordination zwischen den Reaktionen von Blutdruck und Atmung bestand jedoch nicht.

Im Verlauf der Versuche ergab sich die Notwendigkeit einer statistischen Beurteilung des Versuchsmaterials. Bei den 12 Kontrollen betrug die Dauer der präterminalen Apnoe im Mittel 60 sec bei einer Streuung zwischen 66 und 50 sec, die mittlere Dauer der terminalen Schnappatmung 55 sec, Streuung zwischen 75 und 20 sec. Am Blut-

[1] Nach Drucklegung unserer Arbeit erschienen die Untersuchungen von Gänshirt, Severin u. Zylka über den Einfluß von O_2, CO_2 und Glukose auf die Schnappatmung der Ratte [Pflügers Arch. **255**, 283 (1952)]. Sie trennen dabei eine erste Schnapp-Phase von der asphyktischen Dyspnoe ab.

druck ließ sich am besten die Zeit vom Beginn des ersten Druckanstieges bis zum endgültigen Blutdruckabfall verwerten. Sie betrug im Mittel 126 sec, die äußersten Schwankungen lagen zwischen 153 und 105 sec.

Das Alter der Ratten, welches bekanntlich die Dauer der Schnappatmung bis zu einem Alter von 6 Wochen wesentlich beeinflußt (Tschirgi u. Gerard, Selle u. Witten), spielte bei den von uns verwendeten Tieren keine Rolle mehr. Die Höhe des Ausgangsblutdrucks schwankte, offenbar in Abhängigkeit von der Ventilationsgröße, zwischen 50 und 90 mmHg. Sie war ohne wesentlichen Einfluß auf die Dauer von Apnoe, Schnappatmung und Blutdruckreaktion.

Für eine exakte, vergleichbare Beurteilung von therapeutischen Effekten ist die Festlegung wohldefinierter Stadien der Erstickung, bei welchen die Therapie erfolgt, unerläßlich. Diese sind bei den Reaktionen des Atmungszentrums mit dem Beginn der ersten bzw. der zweiten Apnoe gut bestimmbar. (Seltene, atypische Versuche, bei denen die Hyperpnoe ohne deutliche Cäsur in die Schnappatmung überging oder die Schnappatmung völlig fehlte, wurden nicht verwertet.) Die Reaktionen des Blutdrucks waren dagegen weniger konstant und daher zur Festsetzung eines derartigen Zeitpunktes ungeeignet.

Abb. 1. Ratte, 210, g Avertinnarkose. Registrierung von oben: künstl. Beatmung, Blutdruck, isolierter Zwerchfellstreifen. (3/5 des Originals.) 1. *E* Erstickung — durch Abklemmen der Trachealkanüle — für 10 sec. 2. *E* langdauernde Erstickung führt über Hyperpnoe, 1. Apnoe und Schnappatmung zur terminalen Apnoe. Typische Blutdruckreaktionen. ↑ i. v. Injektion von 2 mg Cardiazol/100 g zu Beginn der terminalen Apnoe. Kein Effekt auf Atmung und Blutdruck. Wiederbeatmung (1 min später) ohne Erfolg.

Die *Therapie mit Analeptica* wurde ohne erneute künstlicheBeatmung in einer Versuchsserie sofort nach Beendigung der Schnappatmung, in einer zweiten Versuchsserie zu Beginn der ersten Apnoe durchgeführt.

1. Intravenöse Gaben von 2 mg Cardiazol (6 Tiere), 10 mg Coramin (7 Tiere), 10 mg Coffein (5 Tiere), 0,05 mg Pervitin (7 Tiere), 2 mg Lobelin (8 Tiere), 0,05 mg KCN[1] (3 Tiere) auf 100 g Körpergewicht *nach der Schnappatmung* — bei noch erhaltener Zirkulation — waren durchweg ohne Wirkung auf Kreislauf und Atmung (Abb. 1). Die künstliche At-

[1] Blood und D'Amour gaben 1 mg Cardiazol, 10 mg Coramin, 10 mg Coffein und 0,05 mg KCN/100 g Ratte. Die Cardiazoldosis wurde nach unseren Erfahrungen modifiziert.

mung wurde in dieser Versuchsserie erst etwa 1 min nach der Injektion wieder angestellt. Diese kurze Verzögerung verminderte die Anzahl der wiederbelebten Tiere von etwa 66% (12 Kontrolltiere mit Beatmung sofort nach der Schnappatmung) auf 10—20%.

2. Bei insgesamt 40 Ratten wurden dieselben Analeptica in der gleichen Dosis (Lobelin hier nur 0,5—2 mg/100 g) *zu Beginn der ersten Apnoe injiziert* (Abb. 2). Eklatante Effekte waren auch in diesem früheren Stadium nicht zu beobachten. Bei der statistischen Bearbeitung ergaben sich dennoch erfaßbare Abweichungen von den Kontrollen (vgl. Tab. 1). So verkürzten Cardiazol, Coramin, Coffein und Lobelin die Dauer der ersten Apnoe. Pervitin und KCN waren in der angewandten Dosis ohne diesen Effekt. Die Dauer der Schnappatmung wurde nur durch Coramin verlängert (Abb. 2). Die Kontraktionen des Zwerchfellstreifens während der Schnappatmung wurden durch Lobelin stark vermindert, durch Coramin dagegen vergrößert, durch die anderen Analeptica nicht beeinflußt.

Abb. 2. Ratte, 220 g. Registrierung siehe Abb. 1. ($^3/_5$ des Originals.) *1* Abklemmen der Trachealkanüle. *E* i. v. Injektion von 10 mg Coramin/100 g zu Beginn der 1. Apnoe: Verkürzung der 1. Apnoe und Verlängerung der Schnappatmung. *2* Erfolgreiche Wiederbeatmung zu Beginn der terminalen Apnoe.

Trotz dieser Wirkung auf erste Apnoe und Schnappatmung beeinflußte kein Analepticum in signifikanter Weise die Zeitdauer vom Beginn der ersten bis zum Beginn der zweiten Apnoe, d. h. kein Analepticum verzögerte den endgültigen Atmungsstillstand. Dementsprechend wurde auch die Zeitdauer bis zum terminalen Blutdruckabfall nicht deutlich verlängert. Coffein und Lobelin beschleunigten dagegen in der angewandten Dosierung sogar den terminalen Blutdruckabfall (siehe Tab. 1), d. h. sie wirkten kreislaufschädigend.

Die einzig wirksame Therapie nach dem Aussetzen der Schnappatmung bestand in der *künstlichen Beatmung*. Sie führte bei 8 von 12 Tieren zu einer Erholung von Atmung und Kreislauf. Bei den 4 negativen Versuchen kam es zu keiner Restitution des Blutdrucks. Hatte sich der Kreislauf aber wieder erholt, so kam es in allen Fällen auch zu einer Restitution des Atmungszentrums.

Tabelle 1.

Wirkung der Analeptica auf 1. Apnoe, Schnappatmung und Blutdruck bei Erstickung.

Analepticum Dosis mg/100 g	Kontrolle	Cardiazol 2	Coramin 10	Lobelin 0,5—2	Pervitin 0,05	Coffein 10	KCN 0,05
Anzahl d. Vers.	6	7	7	6	8	6	6
Mittl. Dauer d. 1. Apnoe sec.	60±2,3[1]	40±4,6	32±4,4	31±5,8	65±16	28±3,15	47±6,4
Signifikanz d. Abweichg. v. d. Kontrollen	/	+	+	+	—	+	—
Anzahl d. Vers.	6	7	7	6	8	6	6
Mittl. Dauer d. Schnappatmg. sec	55±8,3	77±12,8	90 ± 6,1	37 ± 8,2	47±17.3	91±16,7	62±6,7
Signifikanz d. Abweichg. v. d. Kontrollen	/		+	—			
Anzahl d. Vers.	6	5	5	6	6	6	/
Mittl. Dauer bis z. termin. Blutdruck-abfall sec . .	126±7,75	133±20	105±14,4	70±6,5	142±12,2	84±14	/
Signifikanz d. Abweichg. v. d. Kontrollen	/	—	—	+	—	(+)	/

[1] Es sind jeweils die Mittelwerte und die mittleren Fehler derselben angegeben. Nähere Erläuterung siehe Text.

Wichtig erscheint, daß die Injektion einzelner Analeptica zu Beginn der ersten Apnoe den Erfolg der Wiederbeatmung nach dem endgültigen Atmungsstillstand beeinflußte. So konnten nach Pervitin alle 10 Tiere, nach Lobelin von 6 Tieren durch künstliche Beatmung keines mehr gerettet werden. Auch hier zeigte sich die toxische Wirkung unserer Lobelindosis. Die anderen Analeptica waren in dieser Hinsicht wirkungslos (jeweils 7—10 Versuche).

Entblutung.

Für diese Versuchsreihe wurden 130 Ratten verwendet. Die Blutentnahme erfolgte aus der A. carotis bis der Blutdruck unter 15 mm Hg abgefallen war und sich nicht mehr spontan erholte. Das Entblutungsvolumen betrug 2—4% des Körpergewichts. Die Dauer der Blutentnahme variierte zwischen 2 und 9 min. Bei erniedrigtem Blutdruck kam

es auch hier zu einer präterminalen Apnoe, deren Dauer im Vergleich zu den Verhältnissen bei Asphyxie länger war und bei 10 Kontrollversuchen im Mittel 137 sec, bei einer Streuung zwischen 60 und 255 sec betrug (mittlerer Fehler des Mittelwerts ± 23,1 sec). Die Schnappatmung dauerte hier ebenfalls länger, nämlich im Mittel 98 sec, Streuung zwischen 55 und 145 sec, mittlerer Fehler des Mittelwerts ± 15,5 sec. Bemerkenswert erscheint, daß es während der terminalen Schnappatmung nach

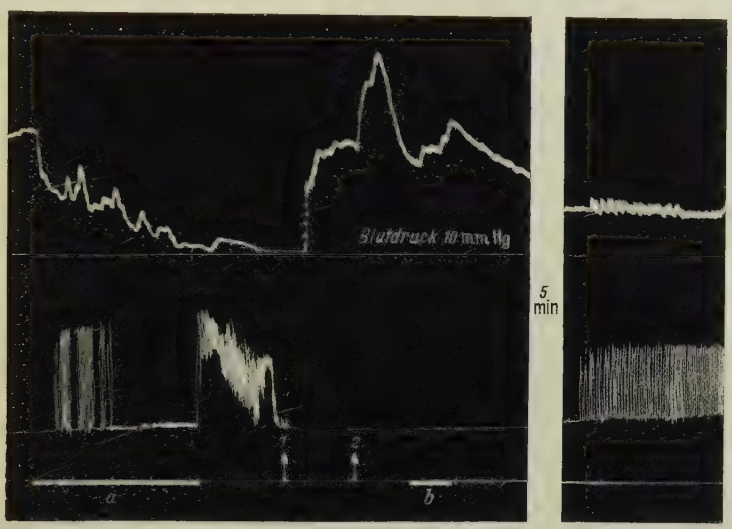


Abb. 3. Ratte, 280 g. Oben: Blutdruck, unten: Isolierter Zwerchfellstreifen. (3/5 des Originals.) *a* Entnahme von 7 cm³ Blut führen über die charakteristischen Stadien zur terminalen Apnoe. Während der Schnappatmung „tonische" Reaktion des Zwerchfells. *1*, *2* und *b*): Infusion von je 5 cm³ Tyrodelösung. Restitution des Blutdrucks und — nach 10 min — auch der Atmung.

Entblutung in etwa 15% der Fälle zu einem Anstieg des Zwerchfelltonus kam[1] (Abb. 3).

Die *Reinfusion* des entnommenen Blutes innerhalb 1 min sofort nach Beendigung der Schnappatmung führte bei 9 von 10 Tieren zu einer Erholung von Kreislauf und Atmung. Der Blutersatz durch die entsprechende Menge Periston war bei 3 von 5 Ratten, durch Dextran bei 2 von 5 und durch die doppelte Menge Tyrodelösung bei 4 von 5 Tieren im akuten Versuch erfolgreich (Abb. 3).

Die Injektion von Cardiazol, Coramin, Coffein, Pervitin (in der auch bei der Erstickung angewandten Dosierung) sowie von 1 mg/100 g Lobelin am Ende der Schnappatmung war auch hier ohne jeden Erfolg (jeweils 5 Versuche).

[1] Im Gegensatz hierzu steht die Beobachtung, daß das Rattenzwerchfell auf Veränderungen des Lungenvolums nicht tonisch reagiert (Taugner, Essig und Dertnig).

Im Gegensatz zu den Asphyxieversuchen waren Coramin und Pervitin, zu Beginn der 1. Apnoe nach Entblutung injiziert, ohne Effekt (je 10 Versuche). Cardiazol (6 Versuche) führte dagegen zu diesem Zeitpunkt zu einem geringen Blutdruckanstieg und entsprechend Abb. 4 zu einer frühzeitigen Unterbrechung der Apnoe durch einzelne Inspirationen, welche dann meist in die Schnappatmung übergingen. Lobelin und Coffein wurden wegen ihrer toxischen Wirkungen in der angewandten Dosierung in diesem Stadium nicht untersucht.

Abb. 4. Ratte, 240 g. Registrierung siehe Abb. 1. ($^3/_5$ des Originals.) *a—b* : Entnahme von 8 cm³ Blut. ↑ i. v. Injektion von 2 mg Cardiazol/100 g: frühzeitige Unterbrechung der 1. Apnoe. *c* Erfolglose Reinfusion des Blutes.

Die Ergebnisse der Reinfusion von Blut wurden durch Cardiazol, Coramin und Pervitin (6, 7, bzw. 9 Versuche) nicht wesentlich verändert.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Sowohl bei Erstickung als auch bei Entblutung erfolgte die Atmungslähmung über die bekannten Stadien: Präterminale (1.) Apnoe, Schnappatmung und terminale (2.) Apnoe. Der Ablauf dieser Stadien war so regelmäßig, daß der Zeitpunkt des therapeutischen Eingriffes an Hand der Atmungsreaktion exakt definiert werden konnte. Vergleichende Untersuchungen über die akute Wirkung analeptischer Stoffe lassen sich nur durchführen, wenn das Stadium der Asphyxie genau definiert ist. Die Reaktionen des Blutdrucks waren weniger charakteristisch.

Unsere Versuche bestätigen erneut, daß die Wiederbelebung von Tieren nach dem terminalen Atmungsstillstand infolge Erstickung bzw. Entblutung nur durch künstliche Beatmung bzw. durch künstliche Beatmung und Reinfusion gelingt. Selbst diese Maßnahmen waren nicht immer erfolgreich: Bei 30% der asphyktischen und bei 10% der entbluteten Tiere kam es durch Beatmung bzw. Reinfusion — offenbar infolge Herzversagens — nicht mehr zu einer Wiederherstellung des Kreis-

laufs. Da das Atmungszentrum sich nach der Restitution des Kreislaufs in allen Fällen wieder erholte[1], besteht vielleicht die Möglichkeit, die Ergebnisse der Wiederbelebung (vor allem bei Erstickung) über eine Beeinflussung des Kreislaufs zu verbessern. Bei der Erstickung schien Pervitin, vielleicht infolge seiner peripheren Wirkung, die Zahl der durch Beatmung wiederbelebten Tiere tatsächlich zu erhöhen. Die Stoffe mit rein zentraler Wirkung hatten auf die Wiederbelebung keinen günstigen Einfluß.

In Übereinstimmung mit den Versuchen von Lendle u. Lü sowie Koeppen waren in unseren Versuchen alle Analeptica, wenn sie ohne künstliche Beatmung nach dem Atmungsstillstand gegeben wurden, wirkungslos. Dieser Befund steht im Gegensatz zu den Ergebnissen von Blood und D'Amour, welche bei der i. v. Injektion von 1 mg Cardiazol, 10 mg Coramin und 0,05 mg KCN/100 g Ratte eine lebensrettende Wirkung dieser Analeptica bei Atmungsstillstand nach N_2-Beatmung beobachteten; vielleicht liegt in diesen Versuchen eine reinere und unschädlichere Form der Anoxämie vor. Coffein (10 mg/100 g) war allerdings auch in ihren Versuchen nur in 7% der Fälle wirksam.

Gaben wir die Analeptica in einem früheren Stadium der asphyktischen Atmungslähmung, nämlich zu Beginn der präterminalen Apnoe, so wurde durch Coramin, Cardiazol und Pervitin die Zeitdauer der ersten Apnoe verkürzt, durch Coramin außerdem die Dauer der Schnappatmung verlängert und die inspiratorischen Impulse dieses Stadiums verstärkt. Bei der Entblutung fehlten auch diese Effekte der Analeptica. Lediglich Cardiazol führte hier zu einer frühzeitigen Unterbrechung der ersten Apnoe.

Die Möglichkeit, daß die genannten zentralen Analeptica im präterminalen Stadium noch zu einer Stimulierung des Atmungszentrums führen können, erscheint nach unseren Versuchen gesichert. Die statistisch errechneten zeitlichen Verschiebungen der Einzelstadien der Atmungslähmung sind jedoch für die Wiederbelebung der Tiere ohne wesentliche Bedeutung. Künstliche Beatmung bzw. Wiederauffüllung des Kreislaufs sind unerläßlich. Eine schlagende Verbesserung der durch künstliche Beatmung bzw. Wiederauffüllung des Kreislaufs erzielten Erfolge durch analeptisch wirkende Mittel ist nicht vorhanden. Durch die Anwendung solcher Stoffe könnte nur kostbare Zeit verloren gehen. (So wurden z. B. die Ergebnisse der Wiederbelebung nach Erstickung schon durch eine Verzögerung von 1 min deutlich verschlechtert.) Bei dieser Sachlage ist die Frage nach einer etwaigen schädlichen Wirkung der Analeptica von besonderer Bedeutung. Die von uns verwendeten Dosen von Coffein und vor allem von Lobelin sind nicht nur wertlos, sondern

[1] Nach Heymans werden die medullären Zentren erst nach einer 30 min andauernden Anoxie irreversibel geschädigt.

führen sogar zu einer Verschlechterung der Ergebnisse von Wiederbeatmung und Reinfusion. Die Lobelindosen von 1 bzw. 2 mg/100 g sind so hoch, daß mit einer Schädigung des Herzens zu rechnen ist. Bei Coffein kommt vielleicht eine Vertiefung der Narkose in Frage (Tartler). Bei den anderen Analeptica wurde eine akute Schädigung nicht beobachtet. Unsere Versuche bestätigen somit die alte Erfahrung, daß bei Schädigungen des ZNS durch Asphyxie und Anoxämie die Krampfdosis ohne akute Symptome vertragen wird. Es ist jedoch andererseits bekannt, daß die länger wirkenden Analeptica nach einer Erholung der Zentren noch zu tödlichen Vergiftungen führen können (vgl. Lendle). Unter diesem Gesichtspunkt wäre nach unseren Versuchen bei derartig extremen Zuständen lediglich die Anwendung von Pervitin in Erwägung zu ziehen.

Die Versuche mit Blutersatzmitteln zeigen, daß die Schädigung des Atmungszentrums durch Entblutung im akuten Versuch nicht nur durch Reinfusion des Blutes, sondern auch — allerdings weniger sicher — durch Periston, Dextran und Tyrodelösung, letztere in doppelter Menge, behoben werden kann. Die Geschwindigkeit der Infusion spielt eine wichtige Rolle.

Zusammenfassung.

1. An 260 Ratten wurde durch Erstickung und Entblutung eine Atmungslähmung erzeugt. Der typische Verlauf der Atmungslähmung (1. Apnoe, Schnappatmung und terminale Apnoe) erlaubt dabei eine exakte zeitliche Festlegung des therapeutischen Eingriffs.

2. Die einzig wirksame Therapie nach dem Aussetzen der Schnappatmung bestand bei der Erstickung in der künstlichen Beatmung, bei der Entblutung in der Infusion von Blut und — weniger sicher — von Periston, Dextran und Tyrodelösung.

3. Cardiazol, Coramin. Coffein, Lobelin und KCN hatten keinen Einfluß auf den Erfolg der Wiederbelebung durch Beatmung und Infusion. Lediglich Pervitin schien die Resultate der künstlichen Beatmung bei Erstickung zu verbessern.

4. Im präterminalen Stadium der Erstickung führten Cardiazol, Coramin, Coffein und Lobelin, bei der Entblutung Cardiazol zu Veränderungen der Dauer von 1. Apnoe bzw. Schnappatmung. Diese Effekte waren für den Erfolg der Wiederbelebung ohne Bedeutung.

5. Toxische Wirkungen konnten bei Coffein, vor allem aber bei der von uns verwendeten hohen Dosis von Lobelin beobachtet werden.

Literatur.

Blood, F, R. u. F. E. D'Amour: Amer. J. Physiol. **156**, 52. (1949). — Eichholtz, F., u. R. Taugner: Pflügers Arch. **254**, 267 (1951). — Heymans, C.: Physiologic. Rev. **30**, 375 (1950). — Hildebrandt, F.: Handb. exper. Pharmakol., Erg.Bd. 5,

S. 128 und S. 151, Berlin 1937. — Verhandlg. Dtsch. Pharm. Ges. München 1935, Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **181**, 89 (1936). — Killian, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **181**, 105 (1936). — Koeppen, S.: Klin. Wschr. **1935**, 1131. — Lendle, L.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **181**, 408 (1936). — Lendle, L., u. F. H. Lü: Klin. Wschr. **1936**, 775. — Nilsson, E., u. B. Eyrich: Acta med. scand. (Stockh.) **5**, 381 (1950). — Tartler, O. P.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **143**, 71 (1929). — Taugner, R., M. Essig u. K. Dertnig: Pflügers Arch. (im Druck). — Tschirgi, R. D., u. R. W. Gerard: Amer. J. Physiol. **150**, 358 (1947). — Selle, W. A., u. T. A. Witten: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **47**, 495 (1941).

Dr. Roland Taugner,
Heidelberg, Hauptstraße 47-51, Pharmakol. Institut der Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 274—279 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Graz
(Vorstand: Prof. Dr. H. F. Häusler).

Adrenalin, Noradrenalin und Corbasil als Zusatz zu Novocain.

Von
F. Lembeck.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. August 1952.)

Nachdem Noradrenalin als der in den überwiegenden Fällen vorherrschende Überträgerstoff adrenerger Nervenendigungen erkannt worden war[1, 2, 3, 4], kam es im Rahmen der genaueren Untersuchung seiner klinischen Verwendbarkeit[5, 6] auch zu seiner Anwendung als gefäßverengendem Zusatz zu Lokalanästhetica[4]. Obwohl die pharmakologisch nahe Verwandtschaft des Noradrenalins mit dem Dioxy-nor-Ephedrin (Corbasil), seine hauptsächlich periphere Wirkung und vor allem das Fehlen einer Gefäßerweiterung in kleinen Dosen, die beim Adrenalin wiederholt zu Zwischenfällen Anlaß gegeben hat, vielversprechend war, zeigten die bisherigen Versuche[4], Noradrenalin als Zusatz zu Lokalanästhetica zu verwenden, daß die Dauer der Lokalanästhesie in bedeutend geringerem Maße als durch Adrenalin verlängert wird. Durch unsere Untersuchung[7] mit der Meerschweinchen-Quaddel-Methode nach Bülbring und Wajda[8] konnte dies bestätigt werden: Um eine gleichlange Anästhesie wie mit Adrenalin zu erzielen, mußte etwa die fünffache Noradrenalinmenge zugesetzt werden.

Dieses mit einer einzigen Methode gewonnene Ergebnis erfordert jedoch gerade bei der Prüfung eines Lokalanästhetikums Ergänzungen insofern, als jede derartige Auswertung durch eine Reihe von Eigenschaften des Lokalanästhetikums selbst, wie etwa Löslichkeit und Resorbierbarkeit, beeinflußt wird und darüber hinaus das Verhalten verschiedener Applikationsarten Berücksichtigung finden muß. So kam es auch zu verschiedenen Methoden, indem neben der Bestimmung der Oberflächenanästhesie[9, 10] allein zur Bewertung der Leitungsanästhesie eine ganze Reihe von Versuchsanordnungen angegeben werden[11, 12], wobei Reizschwelle oder Messung der Chronaxie[13, 14] als Maßstab der Wirkung verwendet werden. Zudem wurde die Leitungsanästhesie, welche wohl den besten Vergleich zu der in der Humanmedizin geübten Verwendung des Novocains abgibt, bisher hauptsächlich an Froschnervenpräparaten untersucht; in unserem Falle sollte aber nicht die lokalanästhetische Wirkung an sich, sondern deren Verlängerung durch gefäßverengende Substanzen untersucht werden, wobei gerade die Verhältnisse am Frosch durchaus nicht mit denen des Warmblüters verglichen werden können. Auch die von uns[7] zunächst verwendete Meerschweinchen-Quaddel-Methode schien nicht ganz zutreffend, da die Coriumgefäße nicht immer die gleiche Reaktion auf Adrenalin zeigen wie das subcutane, muskuläre oder interstitielle Gewebe, in welches die Infiltration gesetzt

wird. Aus diesem Grund sollte die Wirkung von Zusätzen verschiedener Sympathikomimetika zum Novocain mit einer neuen Methode, die möglichst weitgehende Ähnlichkeit mit der üblichen Leitungsanästhesie zeigt, untersucht werden. Zu diesem Zweck schien uns der N. ischiadicus der Ratte besonders geeignet. Denn sein Verlauf zwischen Hüftgelenk und Wirbelsäule weist eine Stelle auf, wo eine genau lokalisierte Infiltration durchgeführt werden kann, also Verhältnisse vorherrschen, die mit einer am Menschen gesetzten Leitungs- oder Plexusanästhesie vergleichbar sind. In vorbereitenden Versuchen zeigte sich jedoch, daß die Prüfung der Sensibilität der Rattenpfote schwer erfaßbar ist: Während junge Ratten auf leichtes Kneifen der Pfote mit einer Pinzette ziemlich regelmäßig eine lebhafte Reaktion zeigten, war bei älteren Tieren sogar nach Kneifen mit einer chirurgischen Pinzette mitunter kaum eine nennenswerte Reaktion zu beobachten. Dagegen ließ sich die im Verlauf einer Leitungsanästhesie eintretende *motorische* Lähmung einwandfrei zu einer quantitativen Erfassung der Wirkungsdauer verwenden, wozu noch der Vorteil kam, daß es durch wiederholt gesetzte Reize, wie dies bei der Prüfung der Sensibilität notwendig ist, nicht zu einer Über- oder Unterempfindlichkeit kommen kann.

Während in der vorhergehenden Untersuchung[7] nur Noradrenalin mit Adrenalin verglichen worden war, wurde nunmehr auch das Corbasil herangezogen, welches sich ebenfalls als Zusatz zum Novocain gut eingeführt hat.

Methodik.

Zu den Versuchen verwendeten wir 150—200 g schwere Albinoratten in Gruppen zu je 12, wobei die Tiere nach jeweils einer Woche neuerlich herangezogen werden konnten. Sie wurden in Einzelkäfige gesetzt und dann das Lokalanästhetikum an der angegebenen Stelle injiziert. Dazu wurde mit einer Nadel, mit der die Erreichung stets der gleichen Tiefe gewährleistet war, in die deutlich fühlbare Einsenkung zwischen Hüftgelenk und Wirbelsäule eingestochen, wobei der Oberschenkel rechtwinklig abgebeugt und etwas vom Rumpf weggezogen wurde. Wir injizierten in allen Fällen eine Menge von 0,5 ml; denn abgesehen davon, daß die Resorptionsgeschwindigkeit bei verschiedenen Injektionsmengen variiert, ergaben geringere Mengen unzuverlässige Werte, da der Nerv nicht so sicher infiltriert wurde. In Abständen von je 5 min wurde die Ratte auf ein horizontal gehaltenes Kantholz (2:2 cm) gesetzt und beobachtet, ob sie die Pfote der gelähmten Extremität auf die Latte setzen konnte. Solange die Wirkung des Anaesthetikums anhielt, war das Tier nicht fähig, das Bein auf die Latte zu heben oder sich seitlich mit den Krallen zu halten. Das erste Aufsetzen auf die Latte nahmen wir als Kriterium für die Dauer der Anaesthesie.

Zu den Versuchen wurde l-Adrenalin- und l-Noradrenalintartrat der Fa. Sanabo, Wien sowie l-Corbasil-hydrochlorid der Farbwerke Höchst verwendet. Sämtliche Zahlenangaben sind auf Base bezogen.

Ergebnisse.

Bei Injektion von 0,5 ml Novocain in den Konzentrationen 0,25, 0,5, 1,0, 2,0% zeigte sich, wie aus Abb. 1 ersichtlich ist, bei logarithmischer Dosis- und Zeit-Achse ein annähernd gradliniger Verlauf der Regressionslinie ($y' = 0{,}68x' + 1{,}06$). In Abb. 2 ist die Dauer der Lokalanästhesie einer 0,5%igen Novocainlösung mit verschiedenen Adrenalin- und Corbasilzusätzen dargestellt. Die Zusätze wurden so

gewählt, daß eine Verlängerung der Wirkung auf höchstens 2½ Std erfolgte; größere Mengen von Adrenalin, die ja auch die praktisch wichtigen Zeiten überschreiten würden, führten zu wenig sicheren Resultaten. Es zeigte sich durchwegs, daß der Zusatz von Adrenalin die stärkste Wirkung hat, dem dann die des Noradrenalin und in weiterem Abstand die des Corbasil folgt. Unter Zugrundelegung der Regressionslinien ergibt sich, daß zur Verdoppelung der Dauer der durch 0,5%iges Novocain gesetzten Anästhesie, die ohne Zusatz etwa 40 min anhält (vgl. Abb. 1), Zusätze von Adrenalin, Noradrenalin und Corbasil not-

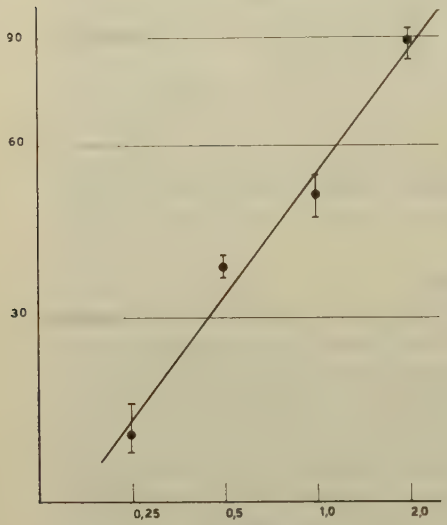


Abb. 1.

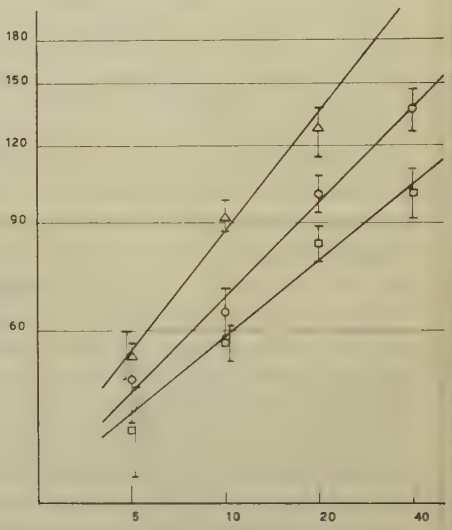


Abb. 2.

Abb. 1. Ratten-Ischiadicus-Präparat. Logarithmische Koordination: Ordinate = Dauer der Lokalanästhesie in min, Abszisse = Prozentgehalt der Novocainlösung.

Abb. 2. Ratten-Ischiadicus-Präparat. Logarithmische Koordinaten: Ordinate = Dauer der Lokalanästhesie in min, Abszisse = Zusätze zu einer 0,5%igen Novocainlösung in µg/ml: △ Adrenalin. ○ Noradrenalin, □ Corbasil.

wendig sind, die zueinander im Verhältnis 1,0:1,7:2,4 stehen, während sich bei Erreichung der dreifachen Anästhesie-Dauer infolge der Divergenz der Regressionslinien ein Verhältnis 1,0:1,9:3,5 ergibt, wie aus der folgenden Tabelle zu ersehen ist:

Tabelle 1.

	Logarithm. Regressionslinie	Doppelte Anästhesiedauer		Dreifache Anästhesiedauer	
		µg/ml	Verhältnis	µg/ml	Verhältnis
Adrenalin	$y' = 0{,}62x' + 1{,}32$	8,0	1,0	15,5	1,0
Noradrenalin	$y' = 0{,}50x' + 1{,}33$	13,6	1,7	28,9	1,9
Corbasil	$y' = 0{,}39x' + 1{,}38$	19,2	2,4	55,0	3,5

Unsere Vergleichsuntersuchung mit der Quaddel-Methode von Bülbring und Wajda[8] ergab bei Verwendung einer 0,25%igen Novocainlösung eine Anästhesiedauer von 9,1 ± 0,5 min. Bei Zusatz von 25 µg/ml Adrenalin bzw. Noradrenalin bzw. Corbasil kam es zu einer Wirkungssteigerung in derselben Reihenfolge (Abb. 3).

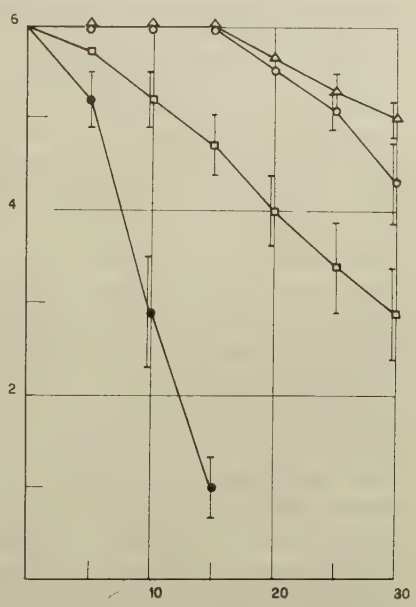


Abb. 3. Meerschweinchen-Quaddel-Methode. Ordinate = Zeit nach Setzen der Quaddel in min. Abszisse = Fehlen einer Reaktion bei 6 verabreichten Stichen (Durchschnittswerte von je 18 Tieren) ● 0,25%ige Novocainlösung ohne Zusatz, mit je 25 µg/ml △ Adrenalin, ○ Noradrenalin und □ Corbasil.

Besprechung der Ergebnisse.

Bei der Leitungsanästhesie des N. ischiadicus ist zur Verlängerung der Lokalanästhesie im Vergleich mit Adrenalin etwa die doppelte Menge Noradrenalin und die dreifache Menge Corbasil erforderlich, welcher Befund sich mit Schaumanns[15] Untersuchungen über die Verminderung der resorptiven Wirkungen des Novocains durch Adrenalin und Corbasil deckt. Dieser Unterschied im Verhältnis Adrenalin: Noradrenalin gegenüber der Quaddel-Methode[7] (1:5 gegen 1:2) dürfte einerseits durch die verschiedenen Applikationsorte, andrerseits aber auch durch weitere Faktoren bedingt sein, auf die noch eingegangen werden soll; bezüglich der Konzentration hat z. B. Schaumann[15] darauf hingewiesen, daß das Konzentrationsoptimum des zugesetzten Adrenalins bzw. Corbasils auch von der Konzentration des verwendeten Lokalanästhetikums abhängt, und das kommt ja auch in der Dosierung der praktisch in Verwendung stehenden Präparate zum Ausdruck (vgl. Gehes Codex, 7. Aufl. 1937, S. 1164).

Da die Sympathikomimetika wegen ihrer gefäßverengenden Wirkung zugesetzt werden, schien es uns zunächst auffallend, daß sich die gleichwirksamen Dosen von Adrenalin, Noradrenalin und Corbasil etwa wie 1:2:3 verhalten, während Burn und Robinson[16] am frischen isolierten Kaninchenohr ein Verhältnis von 1:5,9:20 fanden, welches allerdings nach 24 Std für Adrenalin:Noradrenalin auf 1:2,7 abgesunken war, und zwar infolge Abnahme der Aminooxydase. Während der Perfusion von Ephedrin, welches bekanntlich die Aminooxydase hemmt[17, 18], ging das Verhältnis Adrenalin:Noradrenalin von 1:5,5 auf

1:1,7 zurück, was mit der größeren Affinität der Aminooxydase zum Noradrenalin erklärt wird, da bei Fehlen oder Hemmung dieses abbauenden Enzyms die Zerstörung von Noradrenalin kaum schneller als die von Adrenalin erfolgt. Nicht erklärt wurde von Burn und Robinson[16] allerdings, warum die Wirksamkeit des Corbasils von anfänglich $^1/_{20}$ des Adrenalins nach 90 min auf $^1/_8$ ansteigt. Auch zur Erklärung unserer Befunde dürfte eine Beeinflussung der Aminooxydase heranzuziehen sein. So fanden MacGregor[19], Tripod[20] und Philpot[21], daß Novocain und einige andere Lokalanästhetika neben einer direkten sympathikomimetischen Wirkung ähnlich dem Ephedrin die Aminooxydase hemmen. Ebenso wie damit die von Schaumann[15] beobachtete Potenzierung der blutzuckersteigernden Wirkung des Adrenalins durch Novocain eine Erklärung fände, muß das auch bei der Wechselwirkung von Sympathikomimetika und Lokalanästhetika in Betracht gezogen werden: Wenn Novocain ähnlich dem Ephedrin eine partielle Hemmung der Aminooxydase bewirkt, müßte Noradrenalin bei Anwesenheit von Novocain relativ wirksamer werden; tatsächlich verhält sich in unseren Versuchen, wie aus der Tabelle hervorgeht, Adrenalin:Noradrenalin wie 1:1,7—1,9, somit ähnlich den Ergebnissen von Burn und Robinson[16] unter Ephedrin, welche ein Verhältnis von 1:1,7 erhoben hatten. Versuche, die im Institut aus anderen Gründen mit Sterz angestellt wurden und ergeben hatten, daß ein Zusatz von Noradrenalin plus Ephedrin die Novacainwirkung auch bei etwa der 10fachen Ephedrinmenge nicht mehr verlängerte, würden ebenfalls dafür sprechen, daß wenigstens eine gewisse Hemmung der Aminooxydase vorhanden war, die offenbar durch Ephedrin nicht weiter verstärkt werden konnte.

Corbasil hat eine verhältnismäßig geringe gefäßverengende Wirkung, aber auf Grund seiner Methylgruppe in α-Stellung[22] den Vorteil, durch Aminooxydase nicht zerstört zu werden. Da auch seine Wirkung als Zusatz zu Lokalanästhetika besser ist, als auf Grund der Gefäßverengung zu erwarten wäre, könnte man folgern, daß durch Novocain höchstens eine teilweise Hemmung der Aminooxydase erreicht wird oder aber, daß Adrenalin und Noradrenalin noch auf einem anderen Weg abgebaut werden, welcher ebenfalls für das Corbasil nicht gangbar ist.

Diese Befunde und Überlegungen würden es verständlich machen, daß allein der Aminooxydase-Gehalt verschiedener Gewebe quantitative Unterschiede in der relativen Wirksamkeit bedingen muß, die dann eben nicht nur auf die gefäßverengende Wirkung zurückgeführt werden können. Immerhin und trotz der geschilderten Quantitätsdifferenzen sämtlicher bisherigen Untersuchungen hat sich an der prinzipiellen Reihenfolge der Wirksamkeit Adrenalin:Noradrenalin:Corbasil beim Zusatz zu Lokalanästhetika nichts geändert.

Zusammenfassung.

Die Verlängerung der Dauer der Lokalanästhesie durch Zusatz von Adrenalin, Noradrenalin und Corbasil wird an der Leitungsanästhesie des N. ischiadicus der Ratte untersucht.

Zur Verdoppelung der Wirkungsdauer einer 0,5%igen Novocainlösung ist im Vergleich zu Adrenalin die 1,7fache Menge Noradrenalin bzw. die 2,4fache Menge Corbasil notwendig; zur Verlängerung aufs Dreifache muß die 1,9fache Menge Noradrenalin bzw. die 3,5fache Menge Corbasil verwendet werden.

Dieses der gefäßverengenden Wirkung nicht proportionale Verhalten von Adrenalin, Noradrenalin und Corbasil kann durch die Wirkung des Novocains auf die Aminooxydase erklärt werden.

Literatur.

[1] Euler, U. S. v.: Deutsch. med. Wschr. **75**, 1675 (1950). — [2] Holtz, P., u. H. J. Schümann: Schweiz. med. Wschr. **79**, 252 (1949). — [3] Euler, U. S. v.: Brit. med. J. **1951**, 107. — [4] Holtz, P.: Pharmazie **5**, 49 (1950). — [5] Kaindl, F., u. A. Lindner: Ztschr. Inn. Med. **31**, 377 (1950). — [6] Barcroft, H., u. H. Konzett: Lancet **1949**, 147. — [7] Lembeck, F., u. H. Sterz: Wien. Klin. Wschr. **63**, 816 (1951). — [8] Bülbring, E., u. H. Wajda: J. Pharmacol. **85**, 78 (1945). — [9] Ther, L.: Pharmakologische Methoden, Stuttgart 1949. — [10] Burn, J. H.: Biological Standardization, 2. Aufl., London 1950. — [11] Sollmann, T.: J. Pharmacol. **11**, 1 (1918). — [12] Kochmann, M., u. H. Boehminghaus: Arch. exp. Path. Pharm. **133**, 121 (1928). — [13] Laubender, W., u. M. Saum: Arch. exp. Path. Pharm. **171**, 619 (1933). — [14] Werz, R.: Arch. exp. Path. Pharm. **167**, 191 (1932). — [15] Schaumann, O.: Arch. exp. Path. Pharm. **198**, 305 (1941). — [16] Burn, J. H., u. J. Robinson: Brit. J. Pharmacol. **6**, 101 (1951). — [17] Blaschko, H., D. Richter u. H. Schlossmann: Biochem. J. **21**, 2187 (1937). — [18] Gaddum, J. H., u. H. Kwiatkowski: J. Physiol. **94**, 87 (1938). — [19] MacGregor, D. F.: J. Pharmacol. **66**, 393 (1939). — [20] Tripod, J.: J. Physiol. **97**, 289 (1940). — [21] Philpot, J. F.: J. Physiol. **97**, 301 (1940). — [22] Blaschko, H., D. Richter u. H. Schlossmann: J. Physiol. **89**, 6 P (1937).

Dr. F. Lembeck, Graz (Österreich), Pharmakolog. Institut der Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 280—287 (1953).

Aus der Pharmakologischen Sektion des Refik Saydam Instituts und dem Pharmakologischen Institut der Universität Ankara (Direktor: Prof. Dr. Paul Pulewka).

Der Einfluß der Umgebungstemperatur auf die resorptiven Wirkungen des Novocains und des Tutocains bei der Maus* **.

Von

Paul Pulewka und Dündar Berkan.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. August 1952.)

Für die tödliche Dosis des Novocains bei Mäusen werden in der Literatur sehr verschiedene Werte angegeben. Sievers u. McIntyre[1] untersuchten den Einfluß, den die Umgebungstemperatur auf die Empfindlichkeit der Tiere ausübt und stellten fest, daß die Toxizität des Novocains, gemessen an der *tödlichen Dosis*, für Mäuse bei Raumtemperaturen zwischen 7 und 24° C annähernd gleich blieb, im Bereich von 24—43° jedoch mit der Temperatur bedeutend zunahm. Die DL 50 wurde von den Autoren nach *intraglutaealer* Injektion bei 20° mit 800 mg/kg, bei 43° mit 200 mg/kg bestimmt.

Schon bevor wir die Versuche von Sievers u. McIntyre kannten, hatten wir zufällig bemerkt, daß bei *subcutaner* Injektion sonst nur schwach resorptiv wirksame Novocaindosen an heißen Sommertagen stark toxisch oder tödlich wirkten, und wir fragten, ob diese Erscheinung mit einer Störung des Verhältnisses von Resorption und Elimination oder mit einer zusätzlichen Schädigung der Tiere durch Wärme zusammenhinge.

Okuneff[2] hatte gezeigt, daß *lokale* Erwärmung der Injektionsgegend nach subcutaner Einspritzung von Trypanblaulösung bei Kaninchen eine Beschleunigung der Resorption und damit eine Zunahme der Konzentration des Farbstoffes im Blute herbeiführt.

Unsere Versuche richteten sich zunächst auf die Möglichkeit, daß auch der Aufenthalt des ganzen Tieres in einem warmen Raum zu einer Beschleunigung der Resorption von Lösungen aus dem subcutanen Bindegewebe infolge vermehrter Durchblutung der oberflächennahen Körperschichten führen könne. In diesem Falle müßte bei gleichbleibender Eliminationsgeschwindigkeit die im Körper wirksame Giftmenge

* Eine vorläufige Mitteilung über die Ergebnisse wurde auf der Pharmakologentagung in Mainz (31. August 1951) gemacht.

** Herrn Professor Dr. O. Loewi, New York, zum 80. Geburtstag gewidmet.

und damit nicht nur die tödliche, sondern auch alle übrigen resorptiven Wirkungen zunehmen. Ob dies sich tatsächlich so verhält, untersuchten wir am Beispiel des Novocains und des Tutocains.

Methode.

Die Versuche wurden an männlichen weißen Mäusen im Gewicht von 18—22 g ausgeführt. Der Zugang zum Wasser und Futter blieb unbeschränkt. Als Kriterium der toxischen Wirkung wurde das Auftreten des für die resorptive Wirkung der Lokalanästhetika charakteristischen Vergiftungsbildes verwendet, das besonders durch zentrale Lähmung mit Krampfanfällen gekennzeichnet ist. Als Maß für die Wirkungsstärke einer Dosis diente die Zahl der in einer Mäusegruppe positiv reagierenden Tiere.

Als weiteres Maß der resorptiven Wirkung wurde die mydriatische Wirkung[3] bestimmt, deren Stärke nach dem Ergebnis der Untersuchung zahlreicher Lokalanästhetika bei parenteraler Anwendung ihrer toxischen Wirkung mit großer Annäherung parallel geht (PULEWKA[1, 3]). Die beiden Lokalanästhetika wurden in 1%iger wäßriger Lösung subcutan, Novocain außerdem auch intracutan, injiziert. Die Dosen wurden in den entscheidenden Versuchen so gewählt, daß sie unter Normalbedingungen niemals tödlich wirkten, bei weniger als 50% der Versuchstiere toxische Symptome und bei allen Mäusen eine weit untermaximale mydriatische Wirkung hervorriefen: Novocain wurde in Dosen von 3 und 4 mg je 20 g Maus und Tutocain in Dosen von 1, 1,5 und 2 mg je 20 g Maus gegeben. Während des Stadiums der Krampfanfälle wurde die Pupillenweite in den krampffreien Intervallen gemessen. Zwischen den Versuchen an der gleichen Tiergruppe lag jeweils eine Zeit von 3—7 Tagen. Die Versuchsbedingungen, ausgenommen die Raumtemperatur, wurden konstant gehalten.

Raumtemperaturen zwischen 14 und 32° C wurden außerhalb der Sommermonate mit der Zentralheizung und gegebenenfalls unter Zuhilfenahme elektrisch und mit Leuchtgas betriebener Heizgeräte auf 1° genau eingestellt. Versuche bei Umgebungstemperaturen über 32° wurden in einem Brutraum mit automatischer Temperaturregulation vorgenommen.

Ergebnisse.

Der Einfluß der Umgebungstemperatur auf die Stärke der toxischen und der mydriatischen Wirkung des Novocains.

a) Umgebungstemperatur von 14—30° C. Subcutane Injektion. Abb. 1 zeigt die Wirkung der subcutanen Injektion von 3 mg/20 g, Abb. 2 von 4 mg/20 g Novocain an 5 Mäusen im Temperaturbereich von 14—30° C.

Auf der Abszisse ist die Raumtemperatur eingetragen. Die Ordinate zeigt: 1. Die Zahl der mit zentraler Lähmung und Krampfanfällen reagierenden Tiere durch die starken Punkte und die dazugehörige gestrichelte Kurve. 2. Durch die gleichen an der Ordinate angegebenen Zahlen wird auch die mydriatische Wirkung bezeichnet, die durch den Quotienten der größten nach der Novocaininjektion erreichten Pupillenweite durch die vor der Injektion gemessene Normalweite ausgedrückt wird. Die senkrechten Striche geben die Streuung an, die auf den Senkrechten eingetragenen kurzen Querstriche die Mittelwerte bei 5 Tieren. Durch die lange Horizontallinie wird der Mittelwert der mydriatischen Wirkung aus allen Versuchen bezeichnet.

Beide Abbildungen zeigen, daß nach Injektion von 3 mg oder 4 mg Novocain die Zahl der mit zentraler Lähmung und Krämpfen reagierenden Tiere im Temperaturbereich von 14 bis etwa 24° C innerhalb der Fehlerbreite konstant bleibt, während sie oberhalb 24° zunimmt. Im Gegensatz hierzu ergibt sich aus den Abbildungen weiter, daß das Maximum der pupillenerweiternden Wirkung des subcutan injizierten Novocains von der Temperatur unabhängig ist. Die Mydriasis richtet sich nur nach der Dosis und zeigt keine mit der Temperatur nach einer

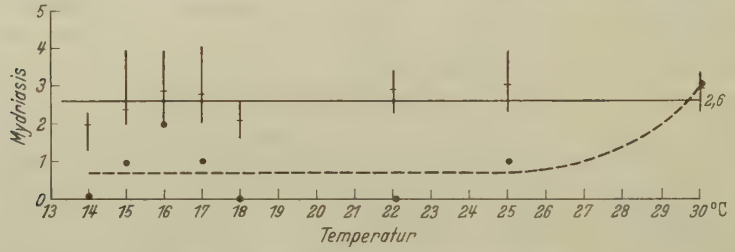


Abb. 1. 5 Mäuse, Novocain 3 mg/20 g subcutan.

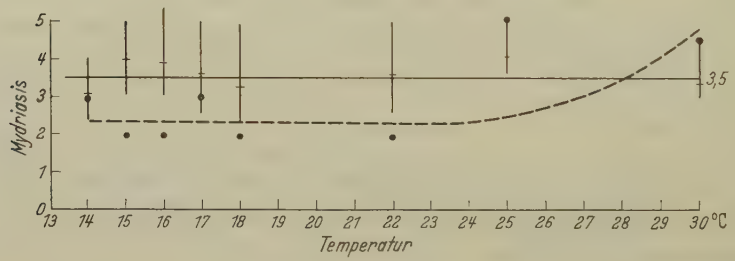


Abb. 2. 5 Mäuse, Novocain 4 mg/20 g subcutan.

bestimmten Richtung gehende Änderung, sondern nur innerhalb der Fehlerbreite liegende Schwankungen um die Mittelwertlinie.

b) Umgebungstemperatur 22 und 37° C. Subcutane und intracutane Injektion. In den folgenden Versuchen wurde die Novocainwirkung bei einer noch höheren Umgebungstemperatur, nämlich 37°, geprüft und mit der Wirkung bei 22° verglichen. Um den Einfluß der Raumtemperatur auf die Resorption in den nahe der Körperoberfläche gelegenen Schichten noch deutlicher erfassen zu können, wurde das Novocain nicht nur subcutan, sondern in weiteren Versuchen unter sonst gleichen Bedingungen auch *intracutan* injiziert.

Die Tiere kamen 10 min vor der Injektion in den auf 37° eingestellten Brutraum und verblieben darin 2 Std nach der Injektion. Darauf wurde die Umgebung langsam im Laufe von 2—3 Std auf etwa 22° abgekühlt.

Kontrollmäuse, die nicht mit Lokalanästhetika behandelt wurden, ertrugen die angegebenen Temperaturveränderungen ohne erkennbare

Reaktion, wenn von einer geringen Bewegungsunlust bei 37° abgesehen wird.

Die Abb. 3 zeigt die an 4 Gruppen zu je 10 Mäusen erhaltenen Versuchsergebnisse.

In den beiden oberen Reihen wird die Zahl der mit Lähmung und Krämpfen sowie der mit dem Tod reagierenden Tiere angegeben. Die Zahl der toten Tiere wurde nach 2 und nach 24 Std abgelesen und gegebenenfalls beide Werte angegeben.

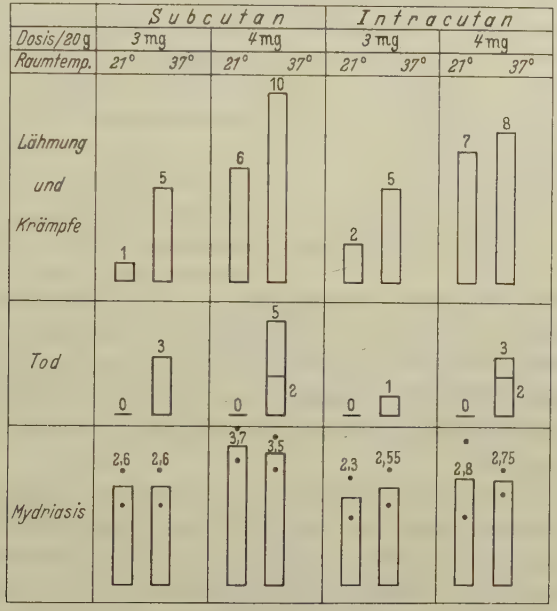


Abb. 3. 40 Mäuse, 1% Novocain.

Die untere Reihe zeigt die Durchschnittswerte der in den gleichen Versuchen ermittelten maximalen mydriatischen Wirkung; die Punkte bezeichnen die durchschnittliche Streuung.

Wie die Abb. 3 zeigt, ist auch nach intracutaner, ebenso wie nach subcutaner, Applikation des Novocains die Zahl der mit Vergiftungssymptomen reagierenden Tiere in der warmen Umgebung größer als bei gewöhnlicher Zimmertemperatur; der Tod trat bei 21° niemals, bei 37° häufig ein. Der Einfluß der Temperatur auf die Giftigkeit ist nach intracutaner nicht größer, sondern eher kleiner als nach subcutaner Injektion.

Im Gegensatz zur toxischen und tödlichen Wirkung wurde das Maximum der mydriatischen Wirkung auch in diesen Versuchen weder nach subcutaner noch nach intracutaner Injektion durch die Umgebungstemperatur beeinflußt.

Der Einfluß der Umgebungstemperatur auf den zeitlichen Verlauf der resorptiven Wirkungen des Novocains.

Die Zunahme der Toxizität des Novocains mit steigender Umgebungstemperatur zeigt sich nach den oben beschriebenen Versuchen nicht nur am Kriterium der tödlichen Wirkung, wie es Sievers u. McIntyre fanden, sondern auch am Kriterium der toxischen Wirkungen. Die in der Wärme vermehrte Toxizität kann weder bei subcutaner noch bei intracutaner Injektion durch eine schnellere Resorption erklärt werden, da die resorptive mydriatische Wirkung von der Temperatur unabhängig blieb.

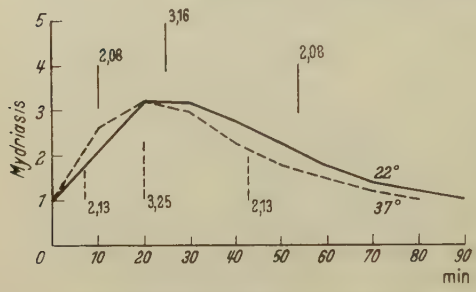


Abb. 4. 22 Mäuse, 4 mg/20 g Novocain (1%).

In den folgenden Versuchen wurde geprüft, ob die Resorptionsgeschwindigkeit durch Wärme überhaupt nicht vermehrt oder ob ihre Auswirkung durch eine ebenfalls schnellere Elimination wieder aufgehoben wird. Zur Beantwortung dieser Frage wurde nicht nur das Maximum der mydriatischen Wirkung, sondern ihr ganzer zeitlicher Verlauf dargestellt. Abb. 4 zeigt den durchschnittlichen Verlauf der mydriatischen Wirkung von 4 mg/20 g Novocain an 22 Mäusen bei 22° und bei 37°.

Wie aus der Abbildung hervorgeht, steigt die Zeitwirkungskurve in der Wärme etwas schneller an und fällt nach Überschreiten des Maximums auch schneller ab als in den Versuchen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Aus der Verlagerung der Wirkungskurve nach links ohne Veränderung des Maximums kann geschlossen werden, daß sowohl die Resorption als auch die Elimination in der Wärme etwas schneller vor sich geht.

In der folgenden Tabelle sind die durchschnittlichen Zeiten des Beginns, des Endes und der Dauer der toxischen Erscheinungen in den gleichen Versuchen der Abb. 4 notiert.

Tabelle 1. *22 Mäuse. 4 mg/20 g Novocain 1% subcutan. Zentrale Lähmung und Krämpfe.*

Raumtemperatur	Zahl der pos. reagierenden Tiere	Beginn min	Ende min	Dauer min
22°	9	16	46	30
37°	17 davon 3 tot innerhalb 20—40 min	13½	37	23½

Das Ende der toxischen Wirkung bei 37° bezieht sich auf den Mittelwert der 14 überlebenden Mäuse.

Auch in der Tabelle drückt sich ein schnellerer Ablauf der resorptiven Wirkung in warmer Umgebungstemperatur aus. Der Beginn und das Ende der toxischen Wirkung sowie ihre Dauer sind kürzer und erfolgen früher als bei gewöhnlicher Zimmertemperatur.

Der Einfluß der Umgebungstemperatur auf die Stärke und den Verlauf der resorptiven Wirkungen des Tutocains.

Die Wirkung des Tutocains wurde mit 3 Dosen, 1 mg, 1,5 mg und 2 mg je 20 g in 1 %iger Lösung, an 5 Mäusen bei 18° und 32° geprüft. Das Ergebnis ist in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle 2. *Tutocain 1% subcutan 5 Mäuse.*

Dosis mg/20 g	1		1,5		2	
Raumtemperatur	18°	32°	18°	32°	18°	32°
Zahl der Tiere mit toxischen Erscheinungen	0	1	1	5	5	5
Maximale Mydriasis, Mittelwerte	2,1	2,3	3	3,3	4,9	4

Beim Vergleich sowohl der toxischen als auch der mydriatischen Wirkung der beiden Lokalanästhetika Novocain und Tutocain erweist sich bei Zimmertemperatur das Tutocain als 2—3mal stärker. Nach der Zusammenstellung von Meyer, Gottlieb und Pick (Experimentelle Pharmakologie 9. Aufl. 1936) verhalten sich die nach den Angaben zahl-

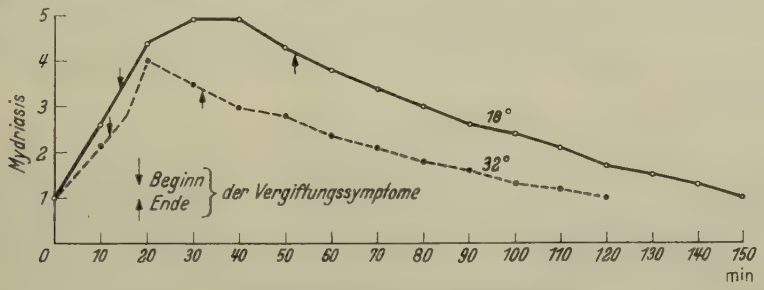


Abb. 5. 5 Mäuse, 1% Tutocain 2 mg/20 g.

reicher Autoren errechneten subcutanen tödlichen Dosen des Novocains und des Tutocains wie 2:1. Der schon an vielen anderen Lokalanästhetika gefundene Parallelismus von toxischer mydriatischer Wirkung[4, 5] bestätigt sich also auch hier.

Die Tab. 2 zeigt ferner, daß auch nach 1 und 1,5 mg Tutocain die Zahl der mit Lähmung und Krämpfen reagierenden Tiere bei warmer Umgebung größer ist. Das Maximum der mydriatischen Wirkung war auch hier in der Wärme nicht über die Fehlergrenze erhöht. Soweit war demnach der Einfluß der Temperatur auf die Wirkung von Novocain und Tutocain prinzipiell gleich.

Der durchschnittliche Verlauf der mydriatischen Wirkung von 1 mg Tutocain war bei 18° und 32° beinahe gleich. Nach 1,5 mg Tutocain war die Zeitwirkungskurve, ebenso wie in den Novocainversuchen, in der Wärme etwas nach links verschoben. Die folgende Abb. 5 zeigt die Zeitwirkungskurven für 18° und 32° nach Anwendung von 2 mg Tutocain.

Bei 32° liegt hier die Dosenwirkungskurve im ganzen Verlauf unter der bei 18° gefundenen. Wir schließen daraus auf eine überwiegende Beschleunigung der Eliminationsvorgänge in der Wärme.

Wie die folgende Tabelle zeigt, trat in dem gleichen, auf Abb. 5 dargestellten Versuch die toxische Wirkung von 2 mg Tutocain früher ein und hatte eine kürzere Dauer bei 32° als bei 18°.

Tabelle 3. *5 Mäuse. 2 mg/20 mg Tutocain subcutan. Zentrale Lähmung und Krämpfe.*

Raumtemperatur	Zahl der reagierenden Tiere	Beginn min	Ende min	Dauer min
18°	5	14	52	38
32°	5	12	32	20

Im ganzen war der Einfluß der Umgebungstemperatur auf die Wirkung des Tutocains und des Novocains gleichartig, doch trat in einigen der Tutocainversuche (2 mg) die Beschleunigung der Elimination in der Wärme noch stärker hervor.

In allen Versuchen, sowohl denen mit Novocain als auch denen mit Tutocain, war bei höherer Umgebungstemperatur der Grad der Mydriasis, bei dem Lähmung und Krämpfe auftraten („Kritische Mydriasis"), erniedrigt.

Zusammenfassung.

Nachdem Sievers u. McIntyre früher mit steigender Umgebungstemperatur eine Abnahme der tödlichen Novocaindosis für Mäuse gefunden hatten, ergab sich in unseren Versuchen mit kleinen, gewöhnlich nicht tödlichen subcutan oder intracutan injizierten Novocain- und Tutocaindosen im Bereich von 25° bis 37° C eine mit der Temperatur zunehmende toxische Wirkung auch am Kriterium der zentralen Lähmung mit Krämpfen. Die Verstärkung dieser verglichen mit dem Tod mehr spezifischen Giftwirkung, daneben auch das Ausbleiben einer Wärmeschädigung der Kontrolltiere, sprechen gegen die Annahme, daß die größere Giftigkeit der Lokalanästhetika bei höherer Temperatur durch eine zusätzliche Wärmeschädigung vorgetäuscht wird und ein eigentlicher Zusammenhang zwischen Temperatur und Giftwirkung fehlt. Daß die Tiere in der Wärme gegen die Giftwirkung der Lokalanästhetika wirklich empfindlicher werden, kann auch aus der Abnahme der „kritischen Mydriasis" geschlossen werden. Im Gegensatz zur toxischen Wirkung nahm die resorptive mydriatische Wirkung der beiden

Lokalanästhetika in der Wärme nicht zu. Daher kann die größere Giftigkeit auch nicht durch die infolge der Wärmehyperämie der Haut vermehrte Resorptionsgeschwindigkeit erklärt werden. Obwohl aus den Zeitwirkungskurven der mydriatischen Wirkung des Novocains und aus der Zeit der toxischen Wirkungen eine geringe Beschleunigung der Resorption in der Wärme hervorging, so bewirkte diese doch keine Zunahme der im Körper wirkenden Giftmenge, weil nach dem schnelleren Abfall der Wirkung zu schließen auch die Elimination etwas schneller geschah. In einem Teil der Versuche mit Tutocain trat die Beschleunigung der Elimination durch Wärme noch etwas stärker hervor als die Beschleunigung der Resorption.

Literatur.

[1] Sievers, R. F., and A. R. McIntyre: J. of Pharmacol. **59**, 90 (1937). — [2] Okuneff,: Biochem. Z. **226**, 147 (1930). — [3] Pulewka: Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. **168**, 307 (1932). — [4] Pulewka: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **169**. 482 (1933). — [5] Pulewka: Arch. internat. Pharmacodynamie **65**, 373 (1941).

Prof. Dr. P. Pulewka, Ankara, Bayindir sok. 39.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 288—292 (1953).

Aus der Universitäts-Hautklinik Köln (Direktor: Professor Dr. J. Vonkennel).

Die Behandlung der experimentellen akuten Thalliumvergiftung mit 2,3-Dimercaptopropanol (BAL).

Von

Friedrich Lindlar.

(Eingegangen am 29. August 1952.)

Seit dem Jahre 1927, als eine Thalliumvergiftung mit tödlichem Ausgang zum ersten Male richtig erkannt und beschrieben wurde, sind viele Hunderte von Arbeiten über dieses Problem erschienen. Die wenigen therapeutischen Mitteilungen, die man darunter findet, kann man nicht anders als entmutigend bezeichnen. Zwei jüngere Arbeiten allerdings berichten von beachtlichen Erfolgen im Tierexperiment: Moeschlin u. Demiral konnten thalliumvergiftete Meerschweinchen erfolgreich mit „Antidotum Sauter" (einem stabilisierten H_2S-Präparat) behandeln, sahen aber keine nennenswerte Wirkung von BAL. Spier u. Mitarb. beschreiben recht erfolgreiche Behandlungsversuche an Mäusen und Meerschweinchen mit Thiomedon und „BAL-Intrav", bescheidene Wirkung von BAL.

Die chemische Beschaffenheit der von diesen Autoren angewandten Antidota ist richtungweisend für die Behandlung von Intoxikationen mit zahlreichen anorganischen Stoffen, u. a. von sämtlichen Schwermetallvergiftungen, d. h. auch für die Behandlung der Thalliumvergiftung. Das wirksame Prinzip beruht auf dem organisch gebundenen Schwefel, der das Schwermetall an sich reißt. In solcher Bindung wird dieses entweder an der Entfaltung seiner schädigenden Wirkung gehindert, oder seine Ausscheidung wird begünstigt. Was bei der Entgiftung des jeweiligen Elementes oder seiner Verbindung im Körper genau vor sich geht, läßt sich auf Grund einfacher chemischer Überlegungen nicht feststellen.

Das Studium der sehr umfangreichen BAL-Literatur und ein Blick auf das periodische System der Elemente lassen folgende auffällige Übereinstimmung erkennen: Vergiftungen mit chemisch verwandten Elementen (Zn, Cd, Hg oder As, Sb, Bi) kann man mit BAL günstig beeinflussen. In der dritten großen Periode stehen die Elemente 79—83 (Au, Hg, Tl, Pb, Bi), sie rufen ähnliche Vergiftungserscheinungen hervor. Über ihre erfolgreiche Behandlung mit BAL lagen — bis auf die Ausnahme des Thalliums zur Zeit unserer Versuche (Ende 1950 bis Mitte 1951) — ungezählte Arbeiten vor. Diese chemischen und toxikologischen Beziehungen des Thalliums zu bestimmten Elementen ermutigten uns damals zu unseren experimentellen Studien.

Chemische Versuche.

Zunächst sei in andeutender Form über einige chemische Vorversuche berichtet. Wir konnten feststellen, daß Thalloacetat in wäßriger Lösung und BAL (nur diese beiden Verbindungen wurden später

im Tierexperiment verwandt) in vitro miteinander reagieren; im Neutralpunkt entsteht ein orangeroter Niederschlag, der bei einem p_H-Wert von etwa 5 an abwärts in Lösung geht. Der Niederschlag hinterläßt nach Filtration und Trocknung eine orangerote Substanz, deren chemische und physikalische Eigenschaften geprüft wurden. Durch eine Reihe geeigneter, quantitativ exakter Versuche und nach quantitativer Bestimmung des Thalliumgehaltes der orangeroten Substanz mit Hilfe der Jodmethode (W. Lepper) konnten wir errechnen, daß sich *ein* Molekül BAL mit *einem* Molekül Thalloacetat verbindet und hierfür folgenden chemischen Vorgang annehmen:

$$\begin{array}{l} CH_2\text{—}SH \\ | \\ CH\text{—}SH \\ | \\ CH_2\text{—}OH \end{array} + CH_3\text{—}COOTl \rightarrow \begin{array}{l} CH_2\text{—}STl \\ | \\ CH\text{—}SH \\ | \\ CH_2\text{—}OH \end{array} \text{ oder } \begin{array}{l} CH_2\text{—}SH \\ | \\ CH\text{—}STl \\ | \\ CH_2\text{—}OH \end{array} + CH_3\text{—}COOH$$

Wenn sich nun bei der Entgiftung im Organismus eine Verbindung aus *einem* Molekül BAL und *einem* Molekül Thalloacetat bildet, dann sind zur Bindung von 1 mg Thalloacetat rund 0,5 mg BAL erforderlich. Wir vergifteten unsere Versuchstiere mit 45 mg Thalloacetat/kg Körpergewicht (= 0,9 mg/20 g); die als Antidot zu gebende BAL-Menge müßte demnach *mindestens* 22 mg/kg betragen.

Auf die Fragwürdigkeit derartiger Überlegungen wurde oben bereits hingewiesen. Da man aber erfahrungsgemäß zur Behandlung einer Intoxikation vom Antidot ein Mehrfaches der äquimolekularen Menge zum aufgenommenen Gift gibt, ist für den Fall der Thalliumvergiftung die Annahme berechtigt, daß nur extrem hohe BAL-Dosen entgiftend wirken können. Diese hohen Dosen können aber nur dann wirken, wenn sie zeitig gegeben werden. Vielleicht liegt hier einer der Gründe für restlose therapeutische Versager, wie sie von anderen Autoren gemeldet werden, z. B. von Pastinszky u. Mitarb. (zit. bei Spier) oder von Moeschlin.

Tierversuche.

Unsere Tierversuche wurden ausschließlich an weißen Mäusen durchgeführt unter Wahrung der üblichen tierexperimentellen Voraussetzungen (Gleichheit von Geschlecht, Alter und Abstammung, Beobachtung über mindestens einen Monat nach dem Versuch usw.). Vergiftet wurde mit 0,5%iger wäßriger Lösung von Thalloacetat, subcutan verabfolgt. Behandelt wurde mit selbstbereiteten, stets frischen Lösungen von BAL (0,8%ig) in Erdnuß-Sesamölgemisch, die intraperitoneal gegeben wurden[1].

In der ersten Versuchsreihe wurde die Verträglichkeit von BAL geprüft. An über 100 Tieren wurde eine DL_{100} von 2,6 mg und eine DL_{50} von 2,1 mg/20 g Gewicht ermittelt. Der Eintritt des Todes erfolgte in $^1/_2$—2 Std.

[1] Der Fa. Chemiewerk Homburg, A.G. in Frankfurt a. M. möchten wir an dieser Stelle für die Überlassung von chemischen Präparaten danken.

Die zweite Versuchsreihe diente der Prüfung der minimalen letalen Dosis von Thalloacetat. Diese wurde an 26 Tieren mit 0,9 mg/20 g Gewicht festgelegt. Die Tiere verendeten in 30—80 Std.

In einem dritten Versuch wurde die Verträglichkeit der in vitro bereiteten BAL-Tl-Verbindung geprüft. Eine schwach essigsaure Lösung dieser Verbindung, die jeweils eine letale Thalliummenge enthielt, wurde subcutan verabfolgt. Die 6 getesteten Tiere verendeten in 28—60 Std, d. h. in einer Zeit, in der auch mit Thalloacetat vergiftete Tiere eingehen.

Schließlich konnten wir uns noch durch einen Versuch an 8 Mäusen davon überzeugen, daß die Resorptionszeit des intraperitoneal verabfolgten BAL unabhängig ist von der Menge des zur Lösung verwendeten Öls, d. h. daß BAL vom Peritonaeum elektiv resorbiert wird.

In den therapeutischen Versuchen wurden insgesamt 172 Tiere mit je 0,9 mg Thalloacetat/20 g Gewicht vergiftet und mit verschieden starken BAL-Dosen zu verschiedenen Zeiten behandelt. 3 Tiere gingen nach Injektionsverletzungen ein. Gleichzeitig mit diesen Versuchen wurden 42 Kontrolltiere nur vergiftet und nicht behandelt und 20 Kontrolltiere erhielten im Modus der jeweiligen Behandlung nur BAL (je 5 Injektionen). Von den 42 thalliumvergifteten Kontrolltieren gingen 40 in der Zeit von 23—80 Std ein, 1 Tier verendete nach 230 Std und eines überlebte. Von den 20 Kontrolltieren, die nur BAL bekommen hatten, überlebten 19, während 1 Tier nach 290 Std einging.

Behandelt wurde mit einer einzigen Dosis von 0,8 mg BAL/20 g oder in Form einer Kur mit 5 –6 Einzeldosen von 0,8 –0,5 mg BAL/20 g Gewicht und Dosis. In keinem der Versuche sind wir über 6 Einzeldosen hinausgegangen, da 6 intraperitoneale Injektionen von öligen Lösungen ohnehin für eine Maus ein erhebliches Trauma darstellen dürften. Mit der Behandlung wurde in Intervallen von ½, 1, 2, 3, 5, 10 und 20 Std nach der Vergiftung begonnen. Die nachfolgende Tabelle gibt über diese Versuche Aufschluß.

Alle Tiere machen während und die überlebenden in den ersten Tagen nach der Behandlung einen schwerkranken Eindruck. Sie fressen und trinken wenig, sind äußerst schlaff und träge, nehmen mehrere Gramm Gewicht ab, haben struppige Haare und einige Tage anhaltende, heftige Durchfälle. Diese sind, wie nicht vergiftete und nur durch BAL getestete Kontrolltiere zeigen, wohl in erster Linie auf die BAL-Wirkung zurückzuführen. Nach 4—7 Tagen wird das Verhalten wieder vollkommen normal, Freßlust und Beweglichkeit nehmen zu. Nach 2 Wochen wird das Haar langsam glatt, später dichter, und nach etwa 1 Monat zeigen die überlebenden Tiere ein schön glänzendes, dichtes Haarkleid und Gewichtszunahmen bis zu 5 g gegenüber dem Ausgangsgewicht. Um diese Zeit ist von einer Thalliumintoxikation objektiv nichts mehr feststellbar.

Vers.-Nr.	Anzahl der Vers.-Tiere	Vergift. mit Tl-acet. mg/20g	Behandlung mit Bal i.p. Zeit nach Vergift. in Std (mg BAL/20 g/dosi)	Gesamt-BAL/ 20g Gew. in mg	Tiere verendet in Std			länger als 1 Mon. gelebt	länger als 80 Std gelebt
					24—80	81—240	241—720		
					%-Zahl	%-Zahl	%-Zahl	%-Zahl	%-Zahl
1	10	0,9	½ (0,8)	0,8	80	20	—	—	20
2	8	0,9	½ 6 12 24 48 (0,8 0,6 0,6 0,5 0,5)	3,0	63	37	—	—	37
3	19	0,9	½ 5 10 24 48 (0,8 0,6 0,6 0,5 0,5)	3,0	53	10	10	27	47
4	10	0,9	½ 5 9 13 24 48 (0,8 0,6 0,6 0,6 0,5 0,5	3,6	50	40	—	10	50
5	10	0,9	½ 5 10 24 48 (0,5 0,5 0,5 0,5 0,5)	2,5	40	40	—	20	60
6	10	0,9	½ 12 24 36 48 (0,6 0,6 0,6 0,6 0,6)	3,0	50	40	10	—	50
7	10	0,9	1 (0,8)	0,8	60	20	10	10	40
8	10	0,9	1 5 10 24 48 (0,8 0,6 0,6 0,5 0,5)	3,0	60	20	—	20	40
9	10	0,9	2 (0,8)	0,8	70	20	—	10	30
10	10	0,9	2 6 12 24 48 (0,8 0,6 0,6 0,5 0,5)	3,0	30	30	—	40	70
11	10	0,9	2 6 10 14 24 48 (0,8 0,6 0,6 0,6 0,6 0,5 0,5)	3,6	70	20	—	10	30
12	6	0,9	3 (0,8)	0,8	64	18	18	—	36
13	10	0,9	3 7 12 24 48 (0,8 0,6 0,6 0,5 0,5)	3,0	60	30	—	10	40
14	6	0,9	5 (0,8)	0,8	100	—	—	—	0
15	10	0,9	5 9 14 24 48 (0,8 0,6 0,6 0,5 0,5)	3,0	60	10	—	30	40
16	10	0,9	10 14 18 35 59 (0,8 0,6 0,6 0,5 0,5)	3,0	20	50	—	30	80
17	10	0,9	20 24 28 44 68 (0,8 0,6 0,6 0,5 0,5)	3,0	50	40	—	10	50
Kontrolltiere	20	—	½ 5 10 24 48 (0,8 0,6 0,6 0,5 0,5)	3,0	—	—	5	95	100
	42	0,9	— — — —	—	96	2	—	2	4

Ergebnisse.

1. Mit letalen Thalliumdosen vergiftete Mäuse können durch massive BAL-Gaben in hohen Anfangsdosen zu rund 20% gerettet werden. Bei weiteren 30—40% wird die Überlebungszeit verlängert.

2. Ein Erfolg ist auch dann noch zu erwarten, wenn bis zu 20 Std nach der Vergiftung, d. h. bis kurz vor dem Zeitpunkt, an dem die ersten vergifteten Tiere zugrunde gehen, mit der Behandlung begonnen wird (Versuche 15—17).

3. Eine einzige hohe BAL-Gabe ist wenig erfolgversprechend (Versuche 1; 7; 9; 12; 14).

4. Eine in vitro hergestellte BAL-Tl-Verbindung wird, subcutan verabfolgt, im Tierversuch nicht vertragen.

Literatur.

Bal-Konferenz 1947: Berichte aus Brit. med. J. **4525**, 520, 521, 536, 537 (1947) und Lancet **1947**, 497. — Bräutigam, H. H.: N. med. Welt **1**, 48, 1597 (1950). — Buschke, A., u. Konheim: Schweiz. med. Wschr. **1939**, II, 702. — Buschke, A., u. B. Peiser: Dermat. Abr., R. Virchow-Krankenhaus, Bln. u. Städt. Beratungs- u. Behandlungsstelle f. Geschlechtskranke, Bln.-Lichtenberg, S. 1—57. — Eagle, A., F. Germuth, Magnuson u. R. Fleischman: J. of Pharmacol. **1947**, 196. — Eagle, A., u. H. J. Magnuson: Amer. J. Syph. **1946**, 420. — Giesen, J., u. P. Koelzer: Ärztl. Forsch. **1949**, 133. — Gilman u. Mitarb.: J. of Clin. Invest. **1946**, 549. — Heffter u. Heubner: Handb. d. exp. Pharmacol. Bd. 3, 3. T (1934), 2177ff. — Holzer, R.: Bern, Diss. 1938. — Janovics, T., u. J. Tako: Schweiz. med. Wschr. **80**, 35, 933 (1950). — Lepper, W.: Z. analyt. Chem. **79**, 322 (1930). — Longcope u. Luetscher: Ibid. **1946**, 557. — Mayerhofer, E.: Wien. klin. Wschr. **1947**, 489. — Moeschlin, S. u. B. Demiral: Schweiz. med. Wschr. **82**, 57 (1952). — Montagnani, A.: Dermatol. Wschr. **1951**, 329. — Neureiter: Handwörterbuch d. gerichtl. Med. **1940**, 741. — Spier, H. W. u. Mitarb.: Arch. f. Dermat. **194**, 225 (1952). — Thyresson, N.: Acta dermatovener. (Stockh.) **30**, 417 (1950) **31**, 3 (1951). — Vonkennel, J., u. J. Schöberl: Med. Mschr. **1949**, 561.

Dr. Friedrich Lindlar, Bergisch Gladbach, Feldstr. 86.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 293—311 (1953).

Aus der Medizinischen Universitätskinik Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. L. Heilmeyer)
und aus dem Dr. A. Wander-Institut, Säckingen i. B.
(Leiter: Prof. Dr. O. Westphal).

Über bakterielle Reizstoffe.

IV. Mitteilung.

Experimentelle Untersuchungen zur Differenzierung der therapeutischen Wirkungen von bakterieller Vaccine, reinem Polysaccharid-Pyrogen und acetylierten Polysaccharid-Derivaten aus gramnegativen Bakterien.

Von
Walter Keiderling, Friedrich Wöhler und Otto Westphal.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. August 1952.)

Die Auslösung von Fieber und von charakteristischen Veränderungen im weißen Blutbild, gesetzmäßiger Umstimmungen im vegetativen Nervensystem, Freisetzung körpereigener zellulärer Reizstoffe und Aktivierung des Hypophysen-NNR-Systems gehören zu den reaktiven Erscheinungen, welche im Organismus nach parenteraler Verabreichung bakterieller Reizstoffe nachweisbar werden. Wir haben uns in der Klinik innerhalb der letzten Jahre eingehend mit der Wirkungsanalyse bakterieller Reizstoffe beschäftigt und experimentelle Untersuchungen an gesunden Versuchspersonen und an Versuchstieren durchgeführt. Für derartige Untersuchungen standen uns *verschiedene Typen* bakterieller Reizstoffe zur Verfügung. Einmal verwendeten wir bakterielle Vaccine, d. h. abgetötete gramnegative Bakterien, welche sämtliche Inhaltsstoffe der betreffenden Bakterien enthalten (Typ „*Vaccine*"). Zum anderen verwendeten wir hochgereinigte Polysaccharid-Pyrogene aus gramnegativen Bakterien, wie sie von O. Westphal, O. Lüderitz, E. Eichenberger und W. Keiderling auf Grund des Phenol/Wasser-Verfahrens (O. Westphal, O. Lüderitz und F. Bister) dargestellt wurden (Typ „*Pyrogen*"); und drittens wurde ein chemisch durch Acetylierung abgewandeltes Polysaccharid-Pyrogen untersucht, welches gestattete, gewisse Reizwirkungen zu differenzieren, indem dessen pyrogene Wirkung gegenüber anderen erwünschten Reizwirkungen zurücktrat (Typ „*Acyl-Reizstoff*").

Vom ärztlichen Standpunkt aus muß als Ziel einer rationellen Reiztherapie die Anwendung solcher Reizstoffe angestrebt werden, welche selektiv die Auslösung nur von den Reaktionen gestatten, die zur Erzielung eines gewünschten therapeutischen Effektes notwendig sind. Von

solchen klinisch-praktischen Erwägungen ausgehend, wurden in der Klinik vergleichende experimentelle Untersuchungen zur Differenzierung der Reizwirkungen von bakterieller Vaccine und von hochgereinigten und chemisch abgewandelten Reizstoffen durchgeführt. Über einige Ergebnisse soll in der vorliegenden Arbeit berichtet werden.

Material und Methoden.

Material.

1. Als *Vaccine* dienten uns durch Hitze oder mittels Aceton abgetötete Colikeime, welche nach Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung in sterilem Wasser suspendiert wurden. Konzentration: 50 Millionen Keime pro Kubikzentimeter, vergleichbar der „Stärke I" des Vaccine-Reizstoffs Pyrifer, welcher ebenfalls Coli-Vaccine enthält. 50 Millionen Colikeime entsprechen nach Bestimmungen von Dr. H. Hurni (Wander-Laboratorien, Bern/Schweiz) einem Trockengewicht von 18 μg.

2. Als reines *Pyrogen* verwendeten wir das hochgereinigte Polysaccharid-Pyrogen aus dem Salmonella-Keim *Abortus equi*. Die Extraktion erfolgte mit Hilfe des Phenol/Wasser-Verfahrens. Das Rohmaterial wurde anschließend durch mehrfache Fraktionierung mit Alkohol gereinigt. Es handelt sich um ein in Wasser leicht lösliches Glycolipoid von hohem Molekulargewicht (Größenordnung einige Millionen, G. Schramm, O. Westphal u. O. Lüderitz), welches zu etwa 60—70% aus Zuckerbausteinen (Rhamnose, Mannose, Glucose, Gelaktose und Acetylglucosamin), 7—10% Phosphorsäureester und 20—25% eines Lipoids aufgebaut ist. Das Material enthält keine Spur Protein und auch keine Aminosäure-Anteile. Als Verunreinigung enthält es lediglich 3—5% schwer abtrennbarer bakterieller Ribonucleinsäure.

Dieses Polysaccharid-Pyrogen wurde gewählt, weil es nach vergleichender Prüfung am Menschen geringere subjektive Nebenwirkungen wie Kopfschmerz und Übelkeit verursachte. Quantitativ zeigt dieses Pyrogen bei gleicher Dosierung ungefähr die gleichen Reizwirkungen wie vergleichbare reine Polysaccharid-Pyrogene anderer gramnegativer Keime, wie *E. coli*, *S. typhi*, *B. dysenteriae Shiga* u. a.

Die Ausbeute an reinem Polysaccharid-Pyrogen ist von Species zu Species sowie auch beim gleichen Keim unter verschiedenen Kulturbedingungen nicht konstant. In den von uns untersuchten Fällen betrug sie 2—5% der bakteriellen Trockenmasse (*Ab. equi*, *E. coli*). 50 Millionen Coli-Keime (= 18 μg Trockenvaccine) enthalten demnach etwa 0,4—1,0 μg reines Polysaccharid-Pyrogen.

3. Zur Darstellung der Acyl-Reizstoffe wurde reines Coli-Polysaccharid-Pyrogen (Stamm E. Kröger, Göttingen) mittels Pyridin/Acetanhydrid acetyliert. Dabei entstehen acylierte Präparate, welche vorwiegend lipoidlöslich sind, die aber in den verwendeten Dosen auch in stabile wäßrige Lösungen gebracht werden können. Es zeigte sich, wie an anderer Stelle berichtet wird, daß mit der Dauer der Acetylierung Acyl-Präparate erhalten werden, bei denen unter ständiger Abnahme der absoluten Reizwirksamkeit (gemessen an der Grenzreizdosis) eine zunehmend deutliche Differenzierung der Fieberwirkung von den übrigen Reizwirkungen eintritt. Es wurden daher 3 verschiedene Acyl-Reizstoff-Präparate geprüft, welche sich durch die *Dauer* der zu ihrer Gewinnung angewandten Acetylierungs*zeit*, nämlich 5, 10 und 17 Std, unterschieden ($Co — Ac_5$, $Co — Ac_{10}$ und $Co — Ac_{17}$).

Das *genuine Coli*-Polysaccharid ist ähnlich wie jenes aus *Ab. equi* aufgebaut. Es enthält 70—80% Zuckerbausteine (Rhamnose, Xylose, Glucose, Galaktose und Acetylglucosamin), 7% organisch gebundene Phosphorsäure und ~25% eines

Lipoids. Das Molekulargewicht der Grundeinheit beträgt etwa 1–2 Millionen (G. Schramm, O. Westphal u. O. Lüderitz). Die acetylierten Präparate enthalten 23—26% Acetylgruppen.

Ab.-equi-Pyrogen und *Coli*-Acylreizstoffe wurden jeweils, passend dosiert, in sterile wäßrige Lösungen übergeführt und in Ampullen bis zur Verwendung aufbewahrt.

Methoden.

Die verschiedenen Reizstofftypen wurden zur Differenzierung ihrer therapeutischen Wirkungen in Reizstoffversuchen an gesunden Versuchspersonen und im Tierexperiment an der weißen Ratte geprüft. Die vergleichbaren Reizstoffdosen wurden in Versuchen ermittelt und auf die Veränderungen des weißen Blutbildes (Leukocytose, Eosinopenie und Lymphopenie) bezogen. Bakterielle Vaccine wurde in Reizstoffversuchen am Menschen in Dosierungen von 50 Millionen pro Gesamt-Körpergewicht und bei der Ratte von 5, 25 und 50 Millionen abgetöteter Colikeime pro Kilogramm Körpergewicht intravenös appliziert. Reines Polysaccharid-Pyrogen aus *Ab. equi* kam bei Normalpersonen in Dosierungen von 1 und 2 μg (Gesamt-Körpergewicht) und im Tierexperiment von 0,1 μg pro Kilogramm Körpergewicht zur Anwendung. Die Wirkungen der Acyl-Reizstoffe wurden bei gesunden Versuchspersonen nach intravenöser Injektion von 10—400 μg (Gesamt-Körpergewicht) und bei der Ratte von 100 μg pro Kilogramm Körpergewicht studiert. Bei der Wirkungsanalyse der verschiedenen Reizstofftypen wurden jeweils die Reaktionserscheinungen des Fiebers und des weißen Blutbildes und die Ausscheidung des Harnpepsinogens nach intravenöser Reizstoffapplikation verfolgt.

1. *Fieber.* Die Körpertemperatur wurde axillar in ½—1stündigem Zeitintervall über Beobachtungsperioden bis zu 24 Std nach Reizstoffinjektionen gemessen. Die Meßpunkte wurden zusammen mit den zugehörigen Beobachtungszeiten in ein Koordinatensystem eingetragen. Die vor Reizstoffinjektion gemessene Körpertemperatur wurde als Basislinie benutzt und der Inhalt der durch die Temperaturkurve umschriebenen Fläche mittels eines Ott-Planimeters Nr. 29852 (Bender und Hobein, München) ermittelt. Aus dem Planimeterwert wurde durch Division durch die Anzahl der Beobachtungsstunden jeweils der auf die Zeiteinheit (Std) bezogene „reduzierte Fieber-Indexwert" berechnet.

2. *Blutbild.* Untersuchungen des weißen Blutbildes wurden vor und 2, 4, 8, 24 und 48 Std nach Reizstoffinjektion vorgenommen. Neben den Leukocytenverschiebungen und den Veränderungen im Differentialblutbild wurden auch die eosinophilen Granulocyten in der Zählkammer nach der Methode von R. Dunger verfolgt.

3. *Uropepsin.* Die tägliche Ausscheidung des Harnpepsinogens, welche in Abhängigkeit vom Aktivitätszustand des Hypophysen-NNR-Systems Veränderungen erfährt (O. Westphal, O. Lüderitz und W. Keiderling, W. Keiderling und O. Westphal, W. Keiderling), wurde bei gesunden Versuchspersonen vor, während und nach Reizstoffversuch bestimmt. Zur quantitativen Bestimmung des Uropepsins bedienten wir uns der Hämoglobin-Methode von D. L. Anson und bestimmten das durch die uropeptische Proteolyse aus Hämoglobin-Substrat freigesetzte Tyrosin photometrisch mit Hilfe von Folinschem Phenolreagens. Die methodischen Grundlagen der Uropepsinbestimmung sind an anderer Stelle ausführlich beschrieben (W. Keiderling), so daß auf nochmalige Darstellung verzichtet werden kann.

4. *Tierexperimentelle Untersuchungen.* Die den funktionellen Reaktionserscheinungen entsprechenden morphologischen Veränderungen der Nebennierenrinde wurden an der männlichen weißen Ratte verfolgt. Für die Untersuchungen wurden 97 Ratten aus einem Inzuchtstamm mit einem Durchschnittsalter von

3—4 Monaten und einem Körpergewicht von etwa 130 g verwandt. Die verschiedenen Reizstoffe wurden jeweils Gruppen aus 4—7 Tieren intravenös in die Schwanzvene injiziert. Die Tiere wurden 4, 16 und 96 Std nach Reizstoffapplikation durch Nackenschlag und sofortige Dekapitation getötet. Der histochemische Lipoidnachweis erfolgte nach Fixierung in Helly-Lösung und durch Färbung der Gefrierschnitte mit Sudan-Schwarz. Daneben wurden Färbungen mit kolloidalem Sudan-III und Sudan-III-Hämatoxylin-Gegenfärbung durchgeführt. Weiterhin wurde die Polarisation der doppelbrechenden Substanzen an frischen Gefrierschnittpräparaten verfolgt. Die Darstellung der strukturellen Veränderungen der Zellen und Gewebe erfolgte nach Fixierung in Formalin- bzw. Krallinger-Lösung. Die Gefrierschnitte wurden mittels der Hämatoxylineosin-Färbung und der Feulgen-Nuclear-Reaktion untersucht. Die Schnittdicke der Gefrierschnittpräparate betrug 7 μ. Die Volumenschwankungen der Zellkerne wurden nach der Methode von W. Boguth, H. Langendorff und E. Tonutti verfolgt. Von je 200 Zellen der äußeren Zona fasciculata (Spongiocyten) wurden mit Hilfe des Okularmikrometers die Durchmesser der Zellkerne bestimmt und hieraus die Kernvolumina nach der Formel $4/3 \cdot \pi \cdot r^3$ berechnet. Die berechneten Volumenwerte der Zellkerne wurden in Form von Verteilungskurven graphisch dargestellt. Zur Bestimmung der Mitoseaktivität wurde schließlich noch die Mitoseblockade nach A. P. Dustin durchgeführt, wobei 1 μg Colchicin pro Gramm Rattengewicht subcutan injiziert wurde. Nach 9½ Std wurde die Zahl der auf 1000 Zellen der Zona glomerulosa entfallenden Mitosen bestimmt, wobei in jeweils 5 Präparaten bei einer Schnittdicke von 7 μ je 200 Zellen gezählt wurden.

Untersuchungsergebnisse.

I. Pyrogene Aktivität.

Um die Wirkungen der verschiedenen Reizstofftypen zu differenzieren, wurde die Fieberreaktion nach intravenöser Reizstoffapplikation bei gesunden Versuchspersonen verfolgt.

1. Vaccine. — Coli-Vaccine ist bekanntlich ein starkes Pyrogen, welches am Menschen in Dosierungen von 50 Millionen Keimen starke Fieberreaktionen mit Fieberspitzen bis zu 39—40° C auslöst. Das Reaktionsmaximum wurde in unseren Beobachtungsfällen innerhalb von 4 bis 18 Std nach Reizstoffapplikation erreicht. Der Fieberanstieg erfolgte in zwei unserer Fälle mit mehrstündiger Verzögerung. Die in den Reizstoffversuchen ermittelten Fieber-Index-Werte sind aus Abb. 1 ersichtlich. Wie aus der Abbildung hervorgeht, lagen die reduzierten Indexwerte zwischen 1,0 und 1,6.

2. Reines Polysaccharid-Pyrogen. — Die Reizwirkungen des reinen Pyrogens wurden bei gesunden Versuchspersonen nach intravenöser Injektion von 1 und 2 μg verfolgt. Besonders intensive Fieberreaktionen wurden nach intravenöser Injektion von 2 μg Kohlenhydratpyrogen gesehen, wo Temperatursteigerungen bis zu + 3,8° C eintraten. Das Reaktionsmaximum wurde regelmäßig innerhalb von $2^1/_2$ bis 5 Std erreicht, und ein verzögerter Eintritt der Fieberreaktion wie bei Coli-Vaccine wurde beim reinen Pyrogen nie beobachtet. In der Fieberreaktion scheinen individuelle Unterschiede hinsichtlich der Reiz*dosis*

zu bestehen. So wurde in vereinzelten Beobachtungsfällen ein Fieberanstieg nach intravenöser Injektion von 1 und 2 μg reinen Pyrogens vermißt. Durch vorsichtige Dosissteigerung bis auf 4 μg konnten in diesen Fällen jedoch maximale Fieberreaktionen erzielt werden. Die individuelle Abhängigkeit der Fieberreaktion von der Reizdosis kommt auch in den stärkeren Schwankungen der reduzierten Fieber-Indexwerte zum Ausdruck, welche bei 1 μg zwischen 0,8 und 1,7 und bei 2 μg Kohlenhydratpyrogen zwischen 0,7 und 1,9 lagen.

3. Acyl-Reizstoffe. — Da Coli-Vaccine und reines Pyrogen in therapeutisch wirksamer Dosierung starke Fieberreaktionen auslösen und den

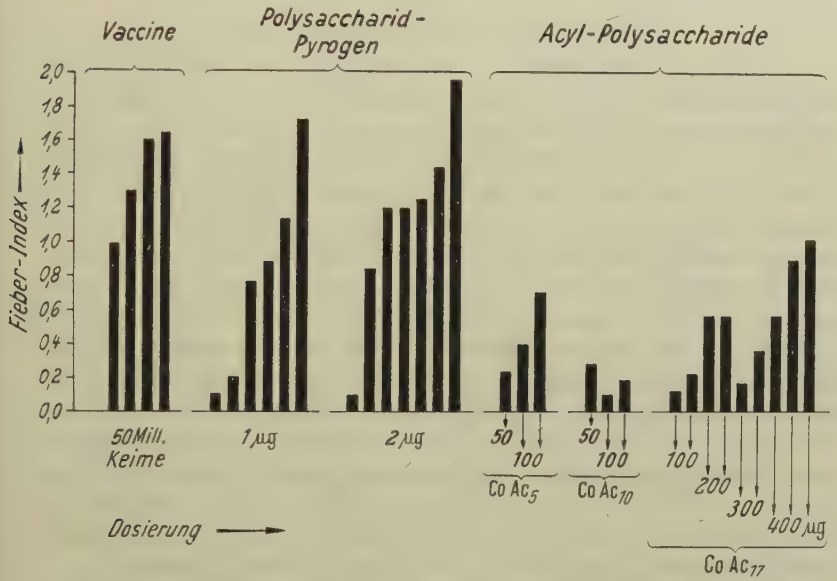


Abb. 1. Pyrogene Aktivität von Vaccine, reinem Polysaccharid-Pyrogen und acetylierten Polysacchariden aus gramnegativen Bakterien.

Kreislauf in oft unerwünschter Weise belasten, wurden — wie schon eingangs erwähnt — Versuche unternommen, aus reinem Pyrogen durch chemische Abwandlung Derivate zu erhalten, welche sich hinsichtlich ihrer Reizwirkungen vom Ausgangsmaterial wie auch von bakterieller Vaccine in bestimmter Weise unterscheiden. Aus dem hochmolekularen wasserlöslichen Coli-Polysaccharid wurden durch Acetylierung die Acyl-Derivate Co-Ac_5, Co-Ac_{10} und Co-Ac_{17} dargestellt und in Reizstoffversuchen an 29 gesunden Versuchspersonen geprüft. Dabei zeigte sich, daß der Acyl-Reizstoff Co-Ac_5 in Dosierungen von 10 und 25 μg keine Fieberreaktion auslöste. Erst bei Dosissteigerung auf 50 und 100 μg wurden mäßige Fieberanstiege bis auf maximal 37,8° C beobachtet. Noch geringer war die pyrogene Aktivität des Acyl-Derivats Co-Ac_{10}, welches

selbst in Dosen von 50 und 100 μg praktisch keinen Fieberanstieg bewirkte. Ein weiterer Verlust an pyrogener Aktivität war bei dem Acyl-Derivat Co-Ac_{17} eingetreten. Hier kam es erst bei Dosissteigerungen bis auf 200 bis 400 μg zu mäßigen Fieberreaktionen mit Anstiegen bis auf maximal 38,1° C. Die im Vergleich zu Coli-Vaccine und reinem Polysaccharid-Pyrogen geringere relative pyrogene Aktivität der Acyl-Derivate geht auch aus der graphischen Darstellung der reduzierten Fieber-Indexwerte in Abb. 1 hervor, in welcher die unter 0,1 liegenden Indexwerte der Reizstoffversuche mit unterschwelligen Dosen unter 50 μg Acyl-Reizstoff nicht mit eingetragen sind.

II. Wirkungen auf das weiße Blutbild.

1. Vaccine. — Bezüglich der Veränderungen des weißen Blutbildes nach parenteraler Verabreichung bakterieller Vaccine möchten wir auf die Untersuchungen von F. Hoff verweisen, der die Leukocytenverschiebungen nach intravenöser Pyriferinjektion vor mehr als 25 Jahren studiert hat. Sie sind durch einen biphasischen Reaktionsablauf mit Leukocytenanstieg, myeloischer Tendenz und Abfall der Lymphocyten und eosinophilen Granulocyten in der primären und mit Leukocytenabfall, Lymphocytose und Eosinophilie in der nachfolgenden Phase gekennzeichnet. Wir konnten diese Untersuchungsbefunde bestätigen und fanden nach intravenöser Injektion von 50 Millionen abgetöteter Colikeime Leukocytenanstiege bis auf 13100 mit vermehrtem Auftreten stabkerniger Zellformen. Die eosinophilen Granulocyten, welche nach der Methode von R. Dunger in der Zählkammer bestimmt wurden, zeigten einen signifikanten Abfall von mehr als 50%, welcher teilweise jedoch erst 24 Std nach Reizstoffapplikation eintrat. Weniger einheitlich war das Verhalten der Lymphocyten, welche in zwei unserer Beobachtungsfälle Anstiege von +23,8 und +90,9% erfuhren.

2. Reines Polysaccharid-Pyrogen. — Besonders ausgeprägt und uniform waren die Veränderungen des weißen Blutbildes nach Einverleibung des Polysaccharid-Pyrogens, wo Leukocytosen bis zu 20900 mit z. T. hochgradiger Vermehrung der Stabkernigen sowie starke Lymphopenien und Eosinopenien mit Abfällen bis zu — 96% beobachtet wurden. Die reaktiven Blutbildveränderungen zeichneten sich gegenüber Coli-Vaccine besonders durch einen akuteren Reaktionseintritt und einen auffallend uniformen Reaktionsablauf aus.

3. Acyl-Reizstoffe. — Die reaktiven Veränderungen des weißen Blutbildes waren nach intravenöser Injektion von Acyl-Reizstoffen durch mäßige Leukocytenvermehrungen bis maximal 12900 sowie durch signifikante Lympho- und Eosinopenien gekennzeichnet. Sichere Unterschiede der Blutbildwirkung in Abhängigkeit von der Acetylierungsdauer der Acyl-Derivate ergaben sich nicht.

Um die Wirkungsunterschiede der Reizstofftypen auf das weiße Blutbild zu demonstrieren, sind in Abb. 2 die Mittelwertskurven der Leukocyten mit den zugehörigen Streuwerten sowie die Mittelwertskurven der prozentualen Schwankungen der Lymphocyten und eosinophilen Gra-

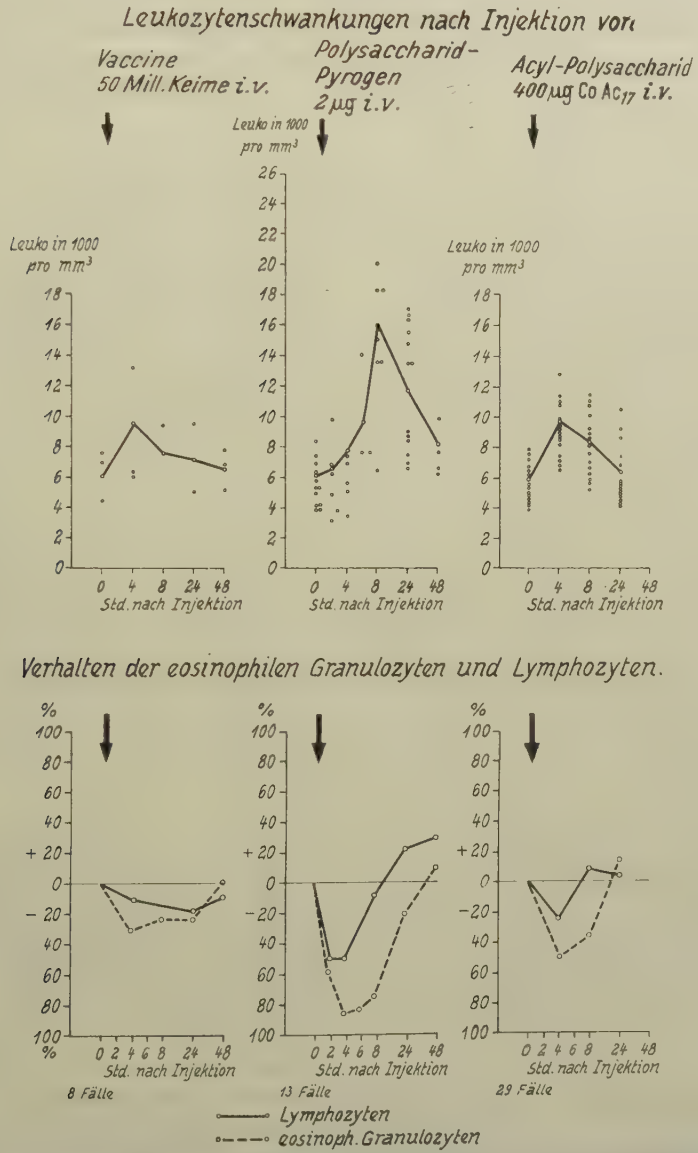


Abb. 2. Veränderungen des weißen Blutbildes nach i. v. Injektion von Vaccine, reinem Polysaccharid-Pyrogen und Acyl-Polysaccharid aus gramnegativen Bakterien bei gesunden Versuchspersonen.

nulocyten graphisch dargestellt. Nach intravenöser Injektion von Coli-Vaccine und Acyl-Reizstoffen werden mäßige und nach reinem Polysaccharid-Pyrogen starke Leukocytosen beobachtet. Während die Mittelwertskurve der Lymphocyten bei Coli-Vaccine nur relativ geringe Abweichungen von der Nullinie erfährt, werden bei reinem Pyrogen und Acyl-Reizstoffen mäßige bis starke Lymphopenien erkennbar. Die eosinophilen Granulocyten lassen bei allen drei Reizstoffetypen einheitlich einen Abfall erkennen, welcher beim Polysaccharid-Pyrogen am stärksten hervortritt.

III. Wirkungen auf das Hypophysen-NNR-System.

Nach parenteraler Verabreichung bakterieller Reizstoffe werden im weißen Blutbild Veränderungen nachweisbar, wie man sie auch nach ACTH und Cortison beobachtet. Die reizstoffinduzierten Lympho- und Eosinopenien sind deshalb als Folge einer Aktivierung des Hypophysen-NNR-Systems gedeutet worden (L. D. Altschule, B. H. Parkhurst und F. Promisel, W. Keiderling und O. Westphal). Die stimulierende Wirkung bakterieller Reizstoffe wurde auch durch andere Untersuchungsbefunde wie durch den Nachweis charakteristischer Veränderungen in der Ausscheidung der 17-Ketosteroide nach parenteraler Verabreichung von Typhus-Vaccine (A. P. Forbes, E. C. Donaldson, E. C. Reifenstein und F. Albright) sowie der 11-Oxy-Corticoide nach Pyriferinjektion (K. H. Pfeffer und HJ. Staudinger) bestätigt. Nach diesen Beobachtungen kann kein Zweifel bestehen, daß das Hypophysen-NNR-System unter Einwirkung bakterieller Reizstoffe zu einer vermehrten Ausschüttung von ACTH und Nebennierenwirkstoffen angeregt wird.

Zum Nachweis reizstoffinduzierter Aktivitätsschwankungen im Hypophysen-NNR-System haben wir in Reizstoffversuchen an gesunden Versuchspersonen wie auch bei der Reizstoffbehandlung klinischer Patienten versuchsweise den *Uropepsintest* benutzt.

Die tägliche Ausscheidung des Harnpepsinogens erweist sich unter normalen Lebensbedingungen und bei normaler Kost als weitgehend konstant und ist von den Schwankungen der normalen Diurese unabhängig. Bei gesteigerter sekretorischer Aktivität der Nebennierenrinde erfährt die Uropepsinogenausscheidung einen Anstieg, während sie bei Nebennierenrindeninsuffizienz auf unternormale Werte oder bis auf Null absinkt. Auch bei senkundär bedingten Aktivitätsschwankungen wie nach Reizstoffinjektion teilen sich die hormonalen Impulse des Hypophysen-NNR-Systems den peptischen Zellen der Magenmucosa mit und rufen Schwankungen in der Ausscheidung des Harnpepsinogens hervor.

Als Beispiele sind in Abb. 3 neben den Reaktionserscheinungen des Fiebers und des weißen Blutbildes die Uropepsin-Schwankungen dargestellt, welche bei gesunden Versuchspersonen unter Einwirkung von Coli-Vaccine, reinem Polysaccharid-Pyrogen und Acyl-Reizstoff beobachtet wurden.

Wie die Abbildung zeigt, sind die Ausscheidungskurven des Harnpepsinogens in der Vorbeobachtungsperiode nur relativ geringen Schwan-

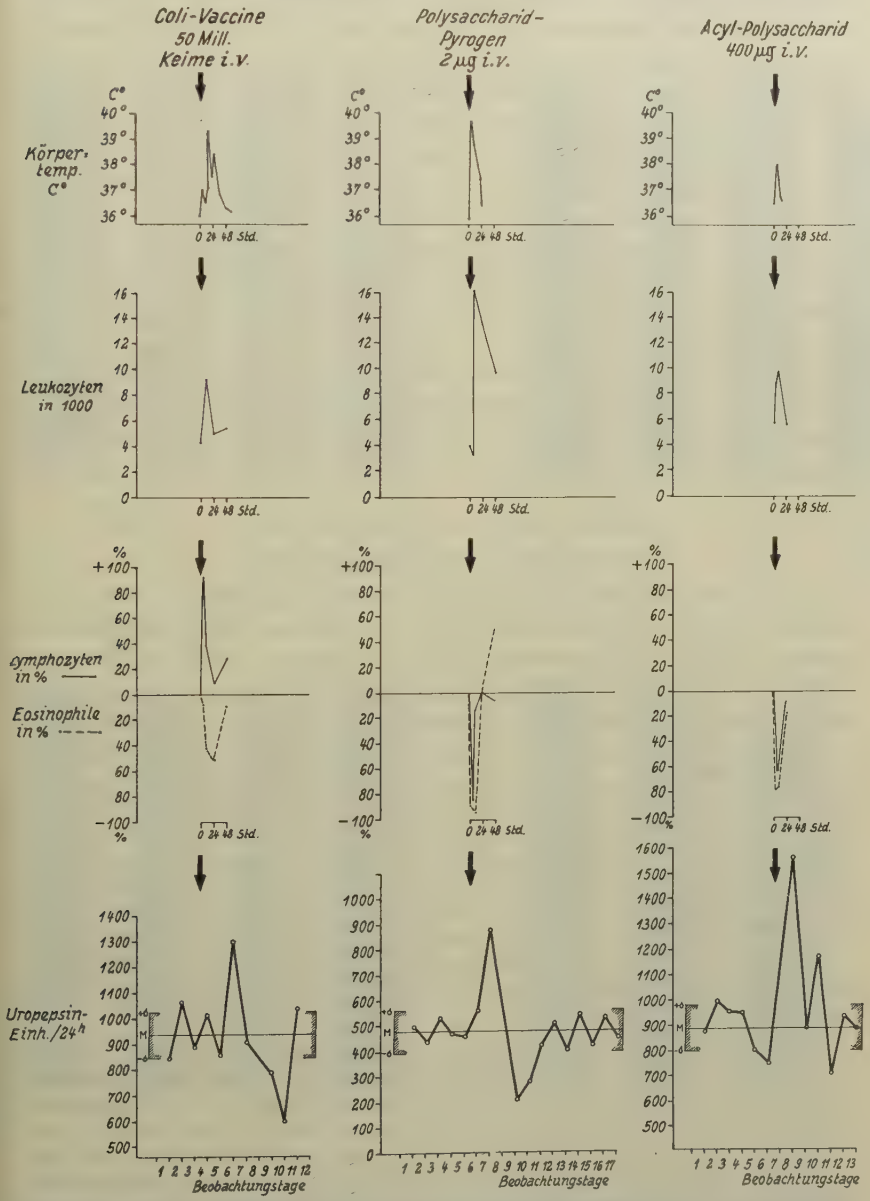


Abb. 3. Vergleich der Wirkungen von Vaccine, reinem Polysaccharid-Pyrogen und acetyliertem Polysaccharid (Ac_{17}) aus gramnegativen Bakterien auf Körpertemperatur, weißes Blutbild und Ausscheidung von Harnpepsinogen bei gesunden Versuchspersonen.

kungen unterworfen. Nach intravenöser Injektion von 50 Millionen Colikeimen bleiben die Uropepsinwerte auch in den beiden ersten Tagen nach Reizstoffapplikation noch innerhalb des individuellen Streubereichs. Erst am dritten Tag nach Reizstoffinjektion erfolgt nach Entfieberung ein steiler Anstieg auf mehr als 150%, welcher in den nachfolgenden Tagen von einer negativen Nachschwankung auf unternormale Werte und Rückkehr zur Ausgangslage gefolgt ist. Auch nach Injektion von reinem Pyrogen wurde wie nach Coli-Vaccine ein biphasischer Verlauf der Ausscheidungskurve mit primärem Anstieg und negativer Nachschwankung beobachtet. Der reaktive Anstieg des Uropepsins erfolgte aber im Gegensatz zu Coli-Vaccine beim reinen Pyrogen schon am Tage nach Reizstoffapplikation. Beim Acyl-Reizstoff war die Reaktion allein durch einen Anstieg der uropeptischen Aktivität gekennzeichnet, während eine negative Nachschwankung fehlte.

Die vorliegenden Untersuchungen lassen erkennen, daß unter Einwirkung der verschiedenen Reizstofftypen eine vermehrte Ausscheidung von Harnpepsinogen erfolgt, welche auf eine Aktivierung des Hypophysen-NNR-Systems hinweist.

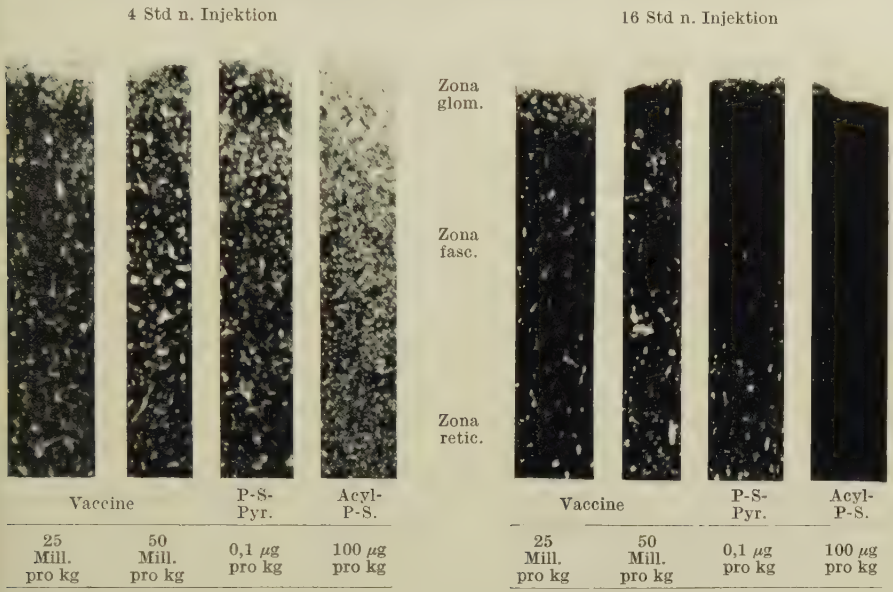
IV. Morphologische Veränderungen der Nebennierenrinde (tierexperimentelle Untersuchungen).

Nachdem die bisherigen Untersuchungen gezeigt haben, daß die verschiedenen Reizstoffe unterschiedliche Wirkungen auf Körpertemperatur, weißes Blutbild und Ausscheidung von Harnpepsinogen entfalten, erschienen histologische Untersuchungen angezeigt, um auch morphologisch die Reizwirkungen auf die Nebennierenrinde zu differenzieren.

In der Literatur wurde bereits mehrfach über morphologische Veränderungen in der Nebennierenrinde nach Einverleibung von Bakterienstoffen berichtet. So konnten unter Einwirkung verschiedener Endotoxine aus der Eberthella-typhosa-Gruppe hämorrhagische Nekrosen in der Nebennierenrinde beobachtet werden (A. R. Martin, E. W. Dennies, A. Delaunay und J. Lebrun, H. R. Morgan, L. Olitzki, S. Avinery und P. K. Koch). In jüngster Zeit fanden F. W. Windle, W. W. Chambers, V. R. Ricker, L. G. Ginger und H. Koenig nach intravenöser Injektion von Pyromen, einem Extrakt von trypsinaufgeschlossenen gramnegativen Keimen (*Proteus vulgaris* und *Pseudomona aeruginosa*), als Zeichen einer gesteigerten sekretorischen Aktivität vergrößerte Zellen in der Zona fasciculata und eine vermehrte Lipoidanreicherung.

In experimentellen Untersuchungen an der weißen Ratte haben wir das Verhalten der Lipoide, der Zellkernvolumina und der Mitoseaktivität unter Einwirkung von Coli-Vaccine, reinem Pyrogen und Acyl-Reizstoff geprüft. Die Untersuchung der Lipoide erfolgte in Gefrierschnittpräparaten mit Hilfe der Sudan-Schwarz-, der kolloidalen Sudan-III- und der Sudan-III-Hämatoxylin-Gegenfärbung. Coli-Vaccine wurde in Dosierungen von 25 und 50 Millionen Keimen pro Kilogramm Körpergewicht intravenös in die Schwanzvene appliziert. Die relativ hohe Dosierung wurde gewählt, nachdem sich in Vorversuchen bei einer Reizdosis von 5 Millionen Keimen pro Kilogramm, deren Inhalt einer Dosis von 0,04—0,1 μg reinem Poly-

saccharid-Pyrogen entspricht, praktisch keine Entspeicherung gezeigt hatte. Erst bei einer Dosissteigerung auf das Zehnfache (50 Millionen Keime pro Kilogramm) wurde eine dem reinen Pyrogen vergleichbare Lipoidentspeicherung gefunden.



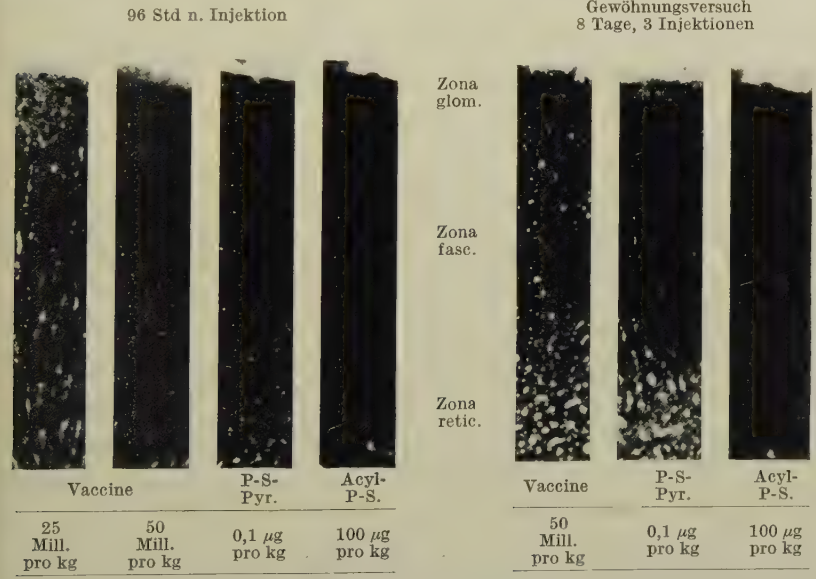


Abb. 4. Lipoidgehalt der Nebennierenrinde nach i.v. Injektion von Vaccine, reinem Polysaccharid-Pyrogen und acetyliertem Polysaccharid ($Ac_{1,7}$) aus gramnegativen Bakterien bei der weißen Ratte (Färbung: Sudan-schwarz).

Reines Polysaccharid-Pyrogen wurde in Dosierung von 0,1 µg/kg und Acyl-Reizstoff von 100 µg/kg intravenös injiziert.

In Abhängigkeit vom injizierten Reizstoffpräparat und von der Zeit nach Reizstoffapplikation ergaben sich charakteristische Unterschiede im Lipoidgehalt der Nebennierenrinde, welche in Abb. 4 zum Vergleich gegenübergestellt sind.

Wie aus der Abbildung hervorgeht, war 4 Std nach intravenöser Reizstoffinjektion in allen Präparaten eine mehr oder weniger deutliche Entspeicherung nachweisbar. Diese trat bei Coli-Vaccine in Dosierungen von 25 und 50 Millionen Keimen per Kilogramm am geringsten und bei Acyl-Reizstoff Ac_{17} mit 100 µg/kg am stärksten hervor. Nach Ablauf von 16 und 96 Std nach Reizstoffinjektion fand sich in der Nebennierenrinde nach einmaliger Reizbelastung ein vermehrter Lipoidgehalt, welcher beim reinen Pyrogen und Acyl-Reizstoff am stärksten in Erscheinung trat. Bei wiederholter Reizstoffapplikation im Gewöhnungsversuch, bei dem die Reizstoffe in gleicher Dosierung wie beim akuten Versuch am ersten, dritten und fünften Tag intravenös injiziert und die Tiere am achten Tag seziert wurden, fand sich beim Polysaccharid-Pyrogen und beim Acyl-Reizstoff eine ausgeprägte Verbreiterung der Zona fasciculata mit Lipoidanreicherung, während diese Veränderungen bei Coli-Vaccine weniger deutlich hervortraten.

Die bei der Lipoidentspeicherung gefundenen Wirkungsunterschiede wurden auch durch Untersuchungsbefunde der doppelbrechenden Substanzen bestätigt, welche ein im Vergleich zur histochemischen Lipoiddarstellung quantitativ etwa entsprechendes Verhalten erkennen ließen.

Um auch Einblick in die strukturellen Veränderungen der Nebennierenrinde unter Einwirkung der verschiedenen Reizstoffe zu gewinnen, wurden vergleichende histologische Untersuchungen durchgeführt. Da die quantitative Meßmethode der Volumenbestimmung der Zellkerne (W. Boguth, H. Langendorff und E. Tonutti) für die Beurteilung der morphokinetischen Anpassungsreaktion in der Nebennierenrinde einen feinen Indicator bildet, wurden die Volumenschwankungen der Zellkerne in der äußeren Zona fasciculata (Spongiocyten) in verschiedenen Zeitabständen nach intravenöser Reizstoffapplikation verfolgt.

Dabei wurde so vorgegangen, daß die Zellkernvolumina im akuten Versuch nach einmaliger Reizbelastung nach 4, 16 und 96 Std bestimmt wurden. Im Gewöhnungsversuch, bei dem die Reizstoffe wiederum am ersten, dritten und fünften Tag injiziert wurden, erfolgte die Bestimmung der Zellkernvolumina am achten Tag. Für die verschiedenen Reizstoffe und Untersuchungszeiten wurden jeweils Gruppen aus 4 Tieren gebildet. In den einzelnen Gruppen wurden pro Tier die Durchmesser von 200 Zellkernen, insgesamt also von 800 Zellkernen bestimmt und hieraus die Mittelwerte für 200 Zellkernvolumina berechnet und in Form von Verteilungskurven in Abb. 5 graphisch dargestellt.

Wie die Abbildung zeigt, lassen die Verteilungskurven, welche 4 Std nach intravenöser Injektion von Coli-Vaccine, reinem Polysaccharid-Pyrogen und Acyl-Reizstoff ermittelt wurden, gegenüber der Normalverteilung praktisch noch kein abweichendes Verhalten erkennen. Im Gegensatz dazu waren die Verteilungskurven nach 16 Std bereits deutlich nach rechts verschoben, während bei Coli-Vaccine noch keine Veränderung der Zellkernvolumina im Sinne einer Vergrößerung nachweisbar war. Erst 96 Std nach Reizstoffapplikation fand sich auch bei Coli-Vaccine eine Rechtsverschiebung, welche beim genuinen und acetylierten

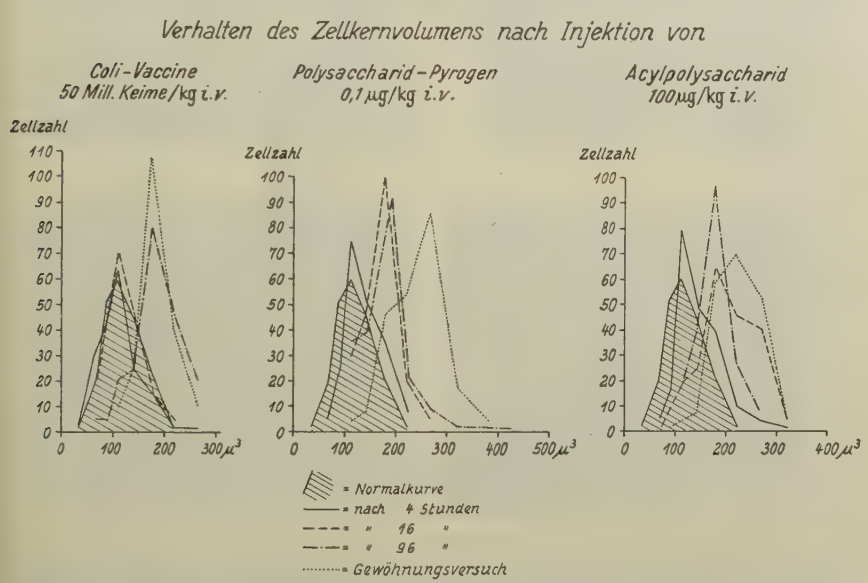


Abb. 5. Verhalten der Zellkernvolumina in der Nebennierenrinde nach i.v. Injektion von Vaccine, reinem Polysaccharid-Pyrogen und Acyl-Polysaccharid (Ac_{17}) aus gramnegativen Bakterien bei der weißen Ratte (Verteilungskurven aus je 200 Zellkernen der äußeren Zona fasciculata).

Polysaccharid noch in gleicher Weise wie nach 16 Std vorhanden war. Noch stärker trat die Rechtsverschiebung bei den hochgereinigten Reizstoffen im Gewöhnungsversuch hervor, während bei Coli-Vaccine keine weitere Größenzunahme der Zellkerne eingetreten war.

Eine weitere Bestätigung für die morphokinetische Umwandlung der Nebennierenrinde im Sinne einer progressiven Transformation erbrachte die Bestimmung der Mitoseaktivität, welche bei den einzelnen Reizstoffen im akuten Versuch nach 4, 16 und 96 Std und im Gewöhnungsversuch nach 8 Tagen vorgenommen wurde. Das Verhalten der Mitoseaktivität, welche jeweils auf 1000 Zellen der Zona glomerulosa bestimmt wurde, ist in Abb. 6 graphisch dargestellt.

Wie die Abbildung erkennen läßt, war die Mitoseaktivität 4 Std nach Reizstoffapplikation bei allen Reizstoffpräparaten praktisch normal. Im Gegensatz dazu war nach 16 und 96 Std eine gesteigerte Mitoseaktivität nachweisbar, welche beim reinen Pyrogen und Acyl-Reizstoff am deutlichsten hervortrat. Auch im Gewöhnungsversuch fand sich bei Coli-Vaccine eine im Vergleich zu den hochgereinigten Bakterienstoffen quantitativ geringere Mitoseaktivität.

Abschließend sind in Abb. 7 noch die morphologischen Veränderungen der Nebennierenrinde, welche 96 Std nach intravenöser Injektion von Coli-Vaccine (50 Millionen Keime/kg), reinem Polysaccharid-Pyro-

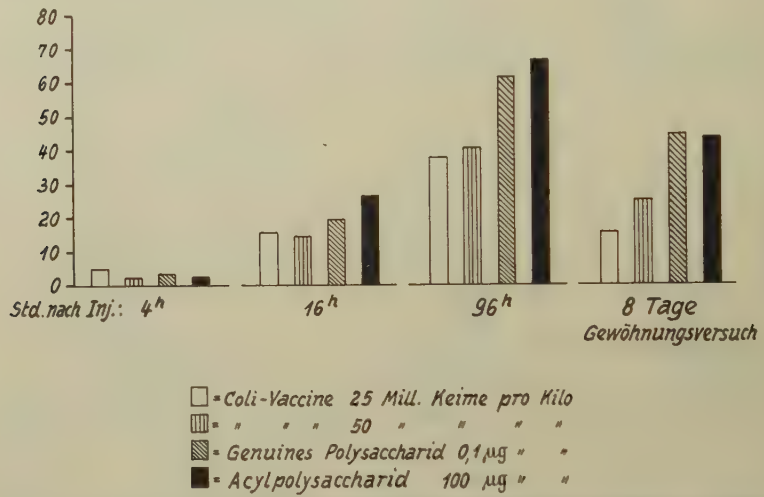


Abb. 6. Verhalten der Mitoseaktivität in der Nebennierenrinde nach i.v. Injektion von Vaccine, reinem Polysaccharid-Pyrogen und Acyl-Polysaccharid ($Ac_{1,7}$) aus gramnegativen Bakterien bei der weißen Ratte.

gen (0,1 µg/kg) und Acyl-Reizstoff (100 µg/kg) nachweisbar sind, zum Vergleich gegenübergestellt. Man sieht, daß unter Einwirkung der verschiedenen Reizstoffpräparate eine morphokinetische Anpassungsreaktion im Sinne einer progressiven Transformation eingetreten ist. Die Veränderungen treten am stärksten bei Acyl-Reizstoff und am geringsten bei Coli-Vaccine hervor. Während bei bakterieller Vaccine nur vereinzelt Mitosen nachweisbar sind, kommen sie bei Kohlenhydrat-Pyrogen und Acyl-Reizstoff gehäuft zur Darstellung.

Diskussion.

Wie bereits durch Untersuchungen anderer Autoren insbesondere von F. Hoff bekannt ist und unsere experimentellen Untersuchungen weiterhin gezeigt haben, werden durch intravenöse Injektion von Inhaltsstoffen aus gramnegativen Bakterien vielfältige Reaktionsmechanismen im

Organismus ausgelöst. Die Reaktionserscheinungen lassen jedoch, wie die Gegenüberstellung in Tab. 1 zusammenfassend zeigt, in Abhängigkeit von der chemischen Natur und der Dosierung des injizierten Reizstoffs

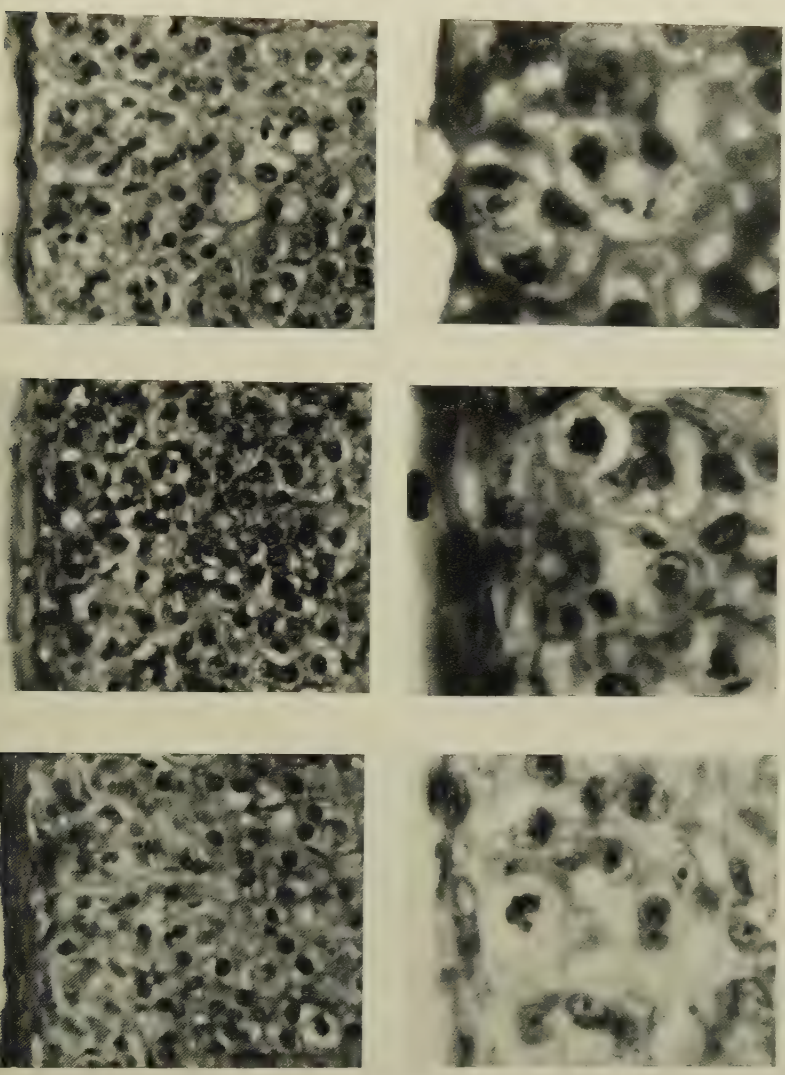


Abb. 7. Vergleich der morphologischen Veränderungen in der Nebennierenrinde nach i.v. Injektion von Vaccine, Polysaccharid-Pyrogen und Acyl-Polysaccharid (Ac_{17}) aus gramnegativen Bakterien bei der weißen Ratte.

Unterschiede erkennen. Im akuten Reizstoffversuch mit bakterieller Vaccine sind Fieberreaktion und Blutbildveränderungen durch verzögerten Reaktionseintritt und protrahierten Reaktionsablauf gekennzeichnet. Die wirksamen Agentien müssen vom Organismus durch Auf-

Tabelle 1: *Vergleich der Wirkungen von Vaccine, reinem Polysaccharid-Pyrogen und Acyl Polysacchariden aus gramnegativen Bakterien.*

Präparat	Coli-Vaccine	Polysaccharid-Pyrogen (E. coli u. Ab. equi)	Acyl-Polysaccharide (E. coli)
Dosierung	50 Mill. Keime i. v.	1—2 μg i. v.	10–100 μg i.v.
Pyrogene Aktivität	+++ (z. T. verzögert)	+++	(+)
Polymorphkernige Leukozytose	++ (z. T. verzögert)	+++	+
Eosinopenie	+	+++	++
Lymphopenie	(+)	+++	++
Gewöhnung	+++	(+)	–
Entzündungsreaktion n. s. c. Inj.	+++	+++	(+)
Uropepsin (schematisch)			
Lipoidentspeicherung n. 4 h	(+)	+	++
Mitoseaktivität	+	++	++
Volumenzunahme der Zellkerne	+	+++	+++

schließung der injizierten Bakterienleiber erst freigesetzt werden, um ihre volle Reizwirkung zu entfalten. In Übereinstimmung damit zeichnen sich hochgereinigte Bakterienstoffe durch einen akuteren Reaktionseintritt und kürzeren Reaktionsablauf aus. Fieberanstieg und Leukocytenveränderungen erfolgen auch bei intravenöser Injektion reiner Bakterienstoffe erst nach Ablauf einer Latenzzeit von 45 bis 90 min.

Die Latenzzeit deutet darauf hin, daß die Auslösung der Reaktionserscheinungen wahrscheinlich auf indirektem Wege erfolgt, und zwar über celluläre Reizungen und Freisetzung von körpereigenen Stoffen nach Art der von V. Menkin aus entzündlichen Exsudaten isolierten endogenen Entzündungsstoffe. Appliziert man z. B. Ab.-equi-Pyrogen bei gesunden Versuchspersonen subcutan oder intramuskulär, so entwickelt sich nach dessen Fixierung an Zelloberflächen im Bereich des Applikationsortes innerhalb weniger Stunden eine lokale Entzündung. Die Affinität hochgereinigter Polysaccharid-Pyrogene zur

Zelloberfläche ist so groß, daß es selbst bei vorausgegangener oder bei gleichzeitiger Injektion von Hyaluronidase nicht gelingt, die exogenen Reizstoffe in die Zirkulation zu treiben und Reaktionserscheinungen wie bei intravenöser Reizstoffapplikation auszulösen. Stets resultiert aus einer gleichzeitigen subcutanen oder intramuskulären Verabreichung von bakteriellem Pyrogen und Hyaluronidase eine lokale, wenn auch etwas diffusere Entzündung. Läßt man aber nach örtlicher Pyrogeninjektion zunächst eine Entzündung aufklingen und injiziert *nun* Hyaluronidase in den Entzündungsbereich, so treten sehr rasch Fieber und charakteristische Blutbildveränderungen in Erscheinung. Diese Wirkungen kommen durch endogene (*sekundäre*) Reizstoffe zustande, welche auf der Basis der Zellreizung durch das bakterielle Pyrogen (*primärer* Reizstoff) infolge proteolytischer Vorgänge freiwerden und beim Entzündungsgeschehen humoral eine wesentliche Rolle spielen (O. Westphal, O. Lüderitz und W. Keiderling; vgl. V. Menkin). Die Vermutung liegt deshalb nahe, daß auch die durch intravenöse Reizstoffapplikation induzierten Reaktionserscheinungen des Fiebers und des weißen Blutbildes auf dem Umweg über die Bildung und Freisetzung endogener Reizstoffe zustande kommen.

Die Reizwirkungen der Inhaltsstoffe aus gramnegativen Keimen sind besonders mit der Polysaccharidfraktion aus der bakteriellen Zellmembran (vgl. M. R. J. Salton und R. W. Horne) verknüpft. Durch intravenöse Injektion von 0,4 bis 1,0 μg reinem Polysaccharid-Pyrogen wird etwa die gleiche pyrogene Aktivität entfaltet wie durch 50 Millionen abgetöteter Colikeime. Durch chemische Abwandlung des reinen Polysaccharids lassen sich Fieber- und Blutbildungwirkung differenzieren, indem die pyrogene Aktivität mit zunehmender Acetylierungsdauer abnimmt, während die Blutbildwirkung weitgehend erhalten bleibt. Die von uns untersuchten Acyl-Derivate rufen in Dosierungen von 10 bis 100 μg charakteristische Blutbildveränderungen hervor, lösen jedoch praktisch kein Fieber aus. Auch bei subcutaner Applikation unterscheiden sie sich von den Pyrogenen, indem eine entzündliche Reaktion beim Acyl-Reizstoff selbst bei hoher Dosierung praktisch nicht eintritt.

Durch bakterielle Reizstoffe wird das Hypophysen-NNR-System zu gesteigerter sekretorischer Aktivität angeregt, was u. a. in einer vermehrten Ausscheidung von Harnpepsinogen zum Ausdruck kommt. Unter Einwirkung von Coli-Vaccine und reinem Polysyccharid-Pyrogen wurden Uropepsinschwankungen mit primärem Anstieg und negativer Nachschwankung auf unternormale Werte beobachtet, während bei nicht-pyrogenen Acyl-Derivaten nur ein Anstieg wie nach ACTH oder Cortison eintrat. Fragt man nach der Ursache für das unterschiedliche Verhalten des Uropepsins, so könnte man annehmen, daß bei Coli-Vaccine und bei reinem Polysaccharid-Pyrogen durch starke celluläre

Reizwirkungen ein gesteigerter Corticoidverbrauch eintritt. Die von der aktivierten Nebennierenrinde vermehrt ausgeschütteten Wirkstoffe würden den Orten erhöhten Corticoidbedarfs zuströmen und daher den peptischen Zellen der Magenmucosa vermindert zur Verfügung stehen, was in der negativen Nachschwankung zum Ausdruck kommt. Beim Acyl-Reizstoff sind demgegenüber die cellulären Reizungen nur sehr gering, und die negative Nachschwankung tritt nicht ein. Im Widerspruch zur Theorie der Entstehung eines Corticoidgefälles stehen die Untersuchungsbefunde von D. H. Nelson, L. T. Samuels u. H. Reich, welche unter „stress"-Bedingungen Veränderungen im Corticoidspiegel des Blutes nicht nachweisen konnten. Wir sind damit beschäftigt, zur Prüfung der Theorie weitere experimentelle Unterlagen zu sammeln.

Aus den mitgeteilten Ergebnissen möchten wir die klinische Schlußfolgerung ziehen, daß den reinen Pyrogenen und mehr noch den Reizkörpern vom Typ des Acyl-Polysaccharids für manche Anwendungsformen der Reiztherapie gegenüber den komplexer und weniger eindeutig wirkenden Vaccinen der Vorrang einzuräumen ist. Die reinen Stoffe liefern im biologischen und klinischen Versuch nicht nur die eindeutigeren und besser reproduzierbaren Resultate, sondern zeigen gleichzeitig auch — besonders in Form der Acyl-Reizstoffe — in viel geringerem Maße unerwünschte Nebenwirkungen. Insbesondere sind Acyl-Reizstoffe bei solchen therapeutischen Maßnahmen indiziert, wo eine Aktivierung des Hypophysen-NNR-Systems angestrebt wird und die Auslösung hoher Fieberaktionen wegen zu starker Belastung des Kreislaufs weder erwünscht noch notwendig erscheint. Die experimentellen Untersuchungen haben gezeigt, daß durch Anwendung der Acyl-Reizstoffe die gleichen Eosinophilenstürze und Lymphopenien bei vergleichsweise gesteigerter Funktionsleistung der Nebennierenrinde erzielt werden können. Und selbst bei Steigerung der Acyl-Reizstoffdosis auf Mengen, welche höheres Fieber (jenseits 39,0° C) erzeugen, besteht offenbar nicht die Gefahr hämorrhagischer Reaktionen in der Nebennierenrinde, wie sie bei Vaccinen und zum Teil auch bei reinen Polysaccharid-Pyrogenen eintreten können. Die bisherigen klinischen Erfahrungen, über die anderenorts berichtet werden soll, scheinen diese Auffassung zu bestätigen.

Fräulein E. Hildenbrand sind wir für wertvolle Unterstützung bei umfangreichen histologischen Untersuchungen zu besonderem Dank verpflichtet.

Zusammenfassung.

Es wird über Ergebnisse von vergleichenden experimentellen Untersuchungen über die Wirkungsweise von bakterieller Vaccine, hochgereinigten wasserlöslichen bakteriellen Polysacharid-Pyrogenen und acetylierten Bakterien-Polysacchariden aus gramnegativen Keimen berichtet. Zur Differenzierung der therapeutischen Wirkungen der 3 Reiz-

stofftypen wurden in Reizstoffversuchen an gesunden Versuchspersonen die Reaktionserscheinungen des Fiebers, des weißen Blutbildes und die Uropepsinschwankungen verfolgt und charakteristische Wirkungsunterschiede gefunden. In tierexperimentellen Untersuchungen an der Ratte konnten die beobachteten Wirkungsunterschiede durch den Nachweis entsprechender morphologischer Veränderungen in der Nebennierenrinde bestätigt werden. Aus den experimentellen Ergebnissen wurden die entsprechenden klinischen Schlußfolgerungen hinsichtlich der Anwendung bakterieller Reizstoffe für die Reizkörpertherapie gezogen.

Literatur.

Altschule, L. D., B. H. Parkhurst u. F. Promisel: Arch. intern. Med. **85**, 505 (1950). — Anson, D. L.: J. Gen. Physiol. **22**, 79 (1938). — Boguth, W., H. Langendorff u. E. Tonutti: Med. Welt 1951, S. 408. — Delaunay, A., u. J. Lebrun: Ann. Inst. Pasteur **63**, 555 (1947). — Dennis, E. W.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **42**, 353 (1939). — Dunger, R.: Münch. Med. Wschr. 1910, II., S. 1942. — Dustin, A. P.: C. r. Soc. Anatom. 1938, S. 205. — Folin, O., u. V. Ciocalteu: J. Biol. Chem. **73**, 627 (1927). — Forbes, A. P., E. C. Donaldson, E. C. Reifenstein u. F. Albright: J. clin. Endocrinol. **7**, 264 (1947). — Hoff, F.: Z. exper. Med. **67**, 615 (1929). — Hoff, F.: Unspezifische Therapie und natürliche Abwehrvorgänge. J. Springer, Berlin 1930. — Hoff, F.: Dtsch. Med. Wschr. **77**, 65 u. 112 u. 146 (1952). — Hoff, F., u. S. Linhardt: Z. exper. Med. **63**, 277 (1928). — Keiderling, W., u. O. Westphal: Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. **57**, 66 (1951). — Keiderling, W.: Die Ausscheidung des Harnpepsinogens und ihre Bedeutung beim Krankheitsgeschehen. Freiburg 1952. — Lüderitz, O., u. O. Westphal: Z. Naturforsch. **7b**, 546 (1952), (Über bakterielle Reizstoffe, II. Mitt.). — Martin, A. R.: Brit. J. exper. Path. **15**, 137 (1934). — Menkin, V.: Dynamics of Inflammation. New York, The Macmillan Comp. 1940. — Menkin, V.: Newer Concepts of Inflammation. Ch. C. Thomas, Springfield III (1950). — Morgan, H. R.: Amer. J. Path. **19**, 135 (1943). — Nelson, D. H., L. T. Samuels u. H. Reich: Proc. of the Second Clinical ACTH Conference, Vol. I, S. 49 (1951). — Olitzki, L., S. Avinery u. P. K. Koch: J. Immunol. **45**, 337 (1942). — Pfeffer, K. H., u. HJ. Staudinger: Klin. Wschr. **29**, 325 (1951). — Salton, M. R. J., R. W. Horne: Biochem. et Biophys. Acta **7**, 177 (1951). — Schramm, G., O. Westphal u. O. Lüderitz: Z. Naturforsch. **7b**, (1952), im Druck (Über bakterielle Reizstoffe, III. Mitt.). — Westphal, O., O. Lüderitz u. F. Bister: Z. Naturforsch. **7b**, 148 (1952). — Westphal, O., O. Lüderitz u. W. Keiderling: Z. Naturforsch. **6b**, 309 (1951). — Westphal, O., O. Lüderitz u. W. Keiderling: Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss. **8**, 100 (1952). — Westphal, O., O. Lüderitz u. W. Keiderling: Zbl. Bakt., I Orig. **158**, 152 (1952). — Westphal, O., O. Lüderitz, E. Eichenberger u. W. Keiderling: Z. Naturforsch. **7b**, 534 (1952) (Über bakterielle Reizstoffe, I. Mitt.). — Windle, F. W., W. W. Chambers, V. R. Ricker, L. G. Ginger u. H. Koenig: Amer. J. med. Sci **219**, 422 (1950).

Dr. Walter Keiderling, Freiburg/Br., Med. Universitäts-Klinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 312—318 (1953).

Aus der Universitätsnervenklinik Göttingen (Direktor: Prof. Dr. G. Ewald).

Zur Frage der Beeinflussung der Elektro- und Cardiazolkrampfschwellen durch vegetative Nervengifte.

Von

H. Wienke.

(Eingegangen am 15. Juli 1952.)

Die physiologischen Zusammenhänge der therapeutischen Wirksamkeit des Elektro- und Cardiazolkrampfes sind noch weitgehend ungeklärt. Die Frage einer ursächlichen Beteiligung von cerebralen Gefäßspasmen wurde von Osterwald für den Cardiazol- und von Hildebrandt für den Elektrokrampfablauf untersucht. Im Gegensatz zu Leibel und Hall, die nach der Stoßinjektion von Cardiazol langdauernde ausgesprochene Minderdurchblutung im Hirngebiet unnarkotisierter Kaninchen fanden, stellten obige Untersucher einen mächtigen Anstieg der Gehirndurchblutung für beide Krampfarten fest. Die Erklärung dieser Diskrepanz wird — wie auch von anderen Forschern betont — in der andersartigen vegetativen Tonuslage, die durch Narkose und Tierart erheblich wechselt, gesucht.

Einen Hinweis auf die Bedeutung vegetativer Pharmaka und die Beeinflussung der Cardiazolkrampfschwelle durch diese ergaben schon die bemerkenswerten Ergebnisse von Hall. Er konnte bei Kaninchen nach vorheriger Gabe von Adrenalin oder Acetylcholin eine wesentliche Herabsetzung der Cardiazolkrampfschwelle (½ konvulsive Dosis) und nach Atropinvorbehandlung eine Heraufsetzung derselben feststellen. Schoetensack und Hann fanden andererseits, daß es durch den Elektrokrampf am narkotisierten Objekt zu einer Senkung, am nicht narkotisierten dagegen zu einer Steigerung des Blutdruckes und damit zu einer Freisetzung sympathicotroper Stoffe kommt. Sie konnten an mit Urethan und Barbituraten narkotisierten Katzen eine erhebliche Blutdrucksenkung feststellen, die bei den verwendeten Stromstärken der Wirkung von 1 γ Acetylcholin entspricht. Diese Blutdrucksenkung ließ sich durch Eserin verstärken und durch Atropin aufheben; dagegen wird sie durch Vagotomie nicht aufgehoben. Curarisierte Katzen ergaben andererseits mit den gleichen Stromstärken eine Blutdrucksteigerung, die 20 bis 30 γ Adrenalin entsprachen und durch Yohimbin aufzuheben waren.

Die Befunde lassen an Beobachtungen von W. R. Hess denken, nach denen bei selektiver Reizung im Bereich der Commissura posterior pressorische, bei Reizung im Bereich der Commissura anterior depressorische Blutdruckeffekte auftraten.

Wenngleich auch die Cardiazol- und insbesondere die Elektrokrampfauslösung keinen lokalisierten Reiz darstellt, so konnte Wolf mittels Elektroschockverfahren bei Prüfung des Nachweises exzitierender Wirkungen narkotischer Stoffe nachweisen, daß trotz deutlicher allgemeiner

Erregungserscheinungen eine verminderte Bereitschaft für Elektrokrampfanfälle zutage trat.

Der verschiedene Angriffspunkt der Narkotika an Hirnrinde und tieferen Zentren legte die Vermutung nahe, daß auch Unterschiede im Wirkungsmechanismus autonomer Pharmaka bezüglich des Cardiazol- und Elektroschocks bestehen würden. Wir beabsichtigten daher, Prüfungen mit diesen Stoffen auch auf andere Tiere (Ratte und Meerschweinchen) zu erweitern und die Elektroschockschwelle mit der Cardiazolkrampfschwelle zu vergleichen. Das Ziel unserer Untersuchungen war ferner, festzustellen, ob Variationen der Durchflußzeit ein Einfluß auf die Schwellenwerte zukommt und dadurch die Möglichkeit der Erfassung tiefer liegender Exzitationszentren gegeben ist.

Methodik.

Als Versuchstiere dienten uns Meerschweinchen (310–450 g) und weiße Ratten (140–230 g), die in großer Zahl vom gleichen Züchter bezogen waren und unter gleichen Bedingungen ernährt wurden. Die Bestimmung der Elektrokrampfschwelle wurde nach den Grundsätzen, wie sie von Gerlich mitgeteilt worden sind, durchgeführt; wobei aber zur Auslösung des elektrischen Reizes statt eines Kontaktpendels, der von Purtscher & Co. hergestellte Elektroschockapparat, der in der humanen Therapie Verwendung findet, gebraucht wurde. Hierdurch war außer einer Variation der Spannung eine genau definierte Änderung der Stromdurchflußzeit von 0,1–1,0 sec möglich. Ein Vorschaltwiderstand von 10000 Ohm machte Änderungen des Kopfwiderstandes bei steigender Spannung bedeutungslos. Durch ein parallel geschaltetes Voltmeter wurde die Spannung bei jeder Reizauslösung nochmals kontrolliert. Die Anordnung der Elektroden und allgemeinen Versuchsbedingungen entsprechen den von Wolf und Teutsch beschriebenen. Die Krampfschwellenbestimmung wurde an unnarkotisierten Tieren durchgeführt.

In Vorversuchen wurde die durchschnittliche Schwelle für den Elektroschock nochmals geprüft. Die Werte wurden im gleichen Bereich der von Wolf mitgeteilten Ergebnisse gefunden (70 Volt ± 12 Volt bei 0,6 sec Stromdurchflußzeit). Bemerkenswert ist, daß unsere Standardabweichung bei Stromdurchflußzeiten von 0,1 sec (Schwellenwert 74 V) ± 14 V betrug, während diese bei der Durchflußzeit von 1,0 sec (Schwellenwert 46 V) ± 6 betrug.

An 30 Ratten wurde die Krampfbereitschaft auf verschiedene Dosen von Cardiazol i. p. ermittelt, wobei ähnliche Ergebnisse wie sie seinerzeit Beckmann fand, erzielt wurden. In der Tab. 1 sind die Prozentzahlen der mit Krämpfe reagierenden Tiere wiedergegeben:

Tabelle 1.

Anzahl der Tiere	Cardiazoldos. in mg/kg	Krampfwirkung in %	Erregungserscheinung in %
15	30	0	5
15	40	9	35
15	50	100	—

Versuche mit vegetativen Nervengiften.

An Ratten und Meerschweinchen wurden bei je 10 Tieren 0,3, 3 und 30 γ *Adrenalin* aus einer Suprareninstammlösung 1:1000 subc. und i. p. verabreicht. Nach 3—6 min erfolgte die Krampfauslösung mit verschiedenen Stromdurchflußzeiten (0,1 und 1,0 sec) und die Cardiazolkrampfschwellenprüfung. Aus der Tab. 1 ist zu ersehen, daß nach allen Adrenalingaben sowohl durch Cardiazol als auch durch E-Schock eine deutliche Herabsetzung des Schwellenwertes zutage tritt. Mit der Durchflußzeit von 0,1 sec tritt diese Senkung nicht so deutlich in Erscheinung wie mit 1,0 sec. Während es bei kurzer Durchflußzeit 2 mal zu abortiver Schockauslösung kam, zeigte sich dieses bei der Durchflußzeit von 1,0 sec nicht. Auffallend war ferner eine um wenige sec. verlängerte Dauer des Tonus, die besonders bei Durchflutung von 1.0 sec. bei vorheriger Gabe von 3 und 30 γ Adrenalin auftrat. Das klonische Stadium blieb unverändert. Mit der größten Dosierung gingen allerdings 3 Tiere nach dem Schock (bei Durchflutung von 1,0 sec) ein. Die Cardiazolschwellensenkung war ebenfalls signifikant.

Tabelle 2.

Anzahl der Tiere	Stromdurchflußzeit i. sec	Schockschwellenmittelwert vor Adrenalin	4 min nach Adrenalin i. γ 0,3	3	30	Bemerkung
10	0,1	76	74	68	65	
10	1,0	49	43	42	38	3 Tiere †

Anzahl der Tiere	Cardiazoldosis in mg/kg	Krampfwirkung i. % vor Adrenalin.	4 min nach Adrenalin i. γ 0,3	3	30	Bemerkung
10	20	0	0	0	0	Erregungs-
10	30	0	10	30	40	erscheinungen
10	40	8	60	60	90	„
5	50	100	100	100	100	—

Das Krampfbild zeigte beim Cardiazolkrampf nach vorheriger Adrenalingabe typische Eigenheiten, die sich dahingehend zusammenfassen lassen, daß bei höheren Adrenalin- und Cardiazolgaben nach sehr heftigen typischen Convulsionen ein tiefes Coma folgte, nach kleineren subkonvulsiven Cardiazolgaben (20 mg/kg) zeigten viele Tiere erhebliche Erregungserscheinungen. Bei den nach 30—40 mg/kg ausgelösten Krämpfen (nach Adrenalin) stellte sich häufig ein verkürztes oder fast fehlendes tonisches Stadium mit Verlängerung der Klonismen bis zu 15 sec ein. Das darauffolgende Subcoma wurde dann im allgemeinen noch 3—6 mal von weiteren Krampfsalven abgelöst.

Bezüglich des Elektrokrampfes zeigten die Meerschweinchen gegenüber den Ratten eine um ein geringes deutlichere Senkung bei kurzer Durchflußzeit (0,1 sec.). Im übrigen verhielten sich die Ergebnisse analog. Die Cardiazolkrampfschwelle war lediglich etwas weniger herabgesetzt, die Erregungen nach Adrenalin traten aber im gleichen Maße in Erscheinung.

Zur Prüfung der antiadrenergischen Wirksamkeit verabfolgten wir das *Gynergen* (Amp. ad Inj.) in Dosen von 10 γ, 1 und 50 mg/kg i. p. Die Krampfschwellenbeeinflussung trat bei diesen Versuchen fast so deutlich in Erscheinung wie nach vorheriger Adrenalingabe. Bei längerer Durchflußzeit ergab sich eine die Standardabweichung deutlich überschreitende Schwellensenkung. Das Krampfbild bot keine wesentlichen Normabweichungen. In Tab. II sind die Ergebnisse für das Meerschweinchen, die denen der Ratten zahlenmäßig entsprechen, wiedergegeben.

Tabelle 3.

Anzahl der Tiere	Stromdurchflußzeit in sec	Schockschwellenmittelwert vor Gynergen	10 min nach Gynergen 10 γ	1	50 mg/kg	Bemerkung
10	0,1	74	75	72	70	
10	1,0	51	47	41	40	4 Tiere †

Anzahl der Tiere	Cardiazol mg/kg	Krampfwirkung in % vor Gynergeng.	10 min nach Gynergen 10 γ	1	50 mg/kg	Bemerkung
5	20	0	0	0	0	
10	30	0	0	10	10	
10	40	15	30	30	40	
5	50	100	100	100	100	2 Tiere †

An je 10 Meerschweinchen und Ratten wurde sodann das Verhalten der Elektroschock- und Cardiazolkrampfschwelle nach Verabreichung *cholinergischer Wirkstoffe* geprüft. Wir verwendeten das *Doryl** und verabreichten Dosen von 0,001 bis 0,1 mg/kg i. p. Die Prüfung der Krampfschwellen erfolgte 5—10 min nach der Injektion.

Die Ergebnisse sind in Tab. III für die Rattenversuche wiedergegeben.

Das Verhalten der Tiere nach der Injektion war unauffällig. Zeichen erhöhten Erregungszustandes ließen sich kaum nachweisen. Das Konvulsionsgeschehen und der postkonvulsive Stupor entsprachen den Normverhältnissen. Sowohl beim Elektro- als auch beim Cardiazolschock

* Carbaminoylcholinchlorid.

Tabelle 4.

Anzahl der Tiere	Stromdurchflußzeit i. sec	Schockschwellenmittelwert vor Dorylg.	5 min nach Doryl i. mg/kg 0,001	0,01	0,1	Bemerkung
10	0,1	71	72	66	67	—
10	1,0	52	50	45	43	

Anzahl der Tiere	Cardiazol mg/kg	Krampfwirkung in % vor Dorylg.	5—10 min nach Doryl in mg/kg 0,001	0,01	0,1	Bemerkung
5	20	0	0	0	0	—
10	30	0	10	20	20	—
10	40	7	40	50	40	—
5	50	100	100	100	100	—

ließ sich die Schwellensenkung nicht so deutlich machen wie bei den adrenergischen Stoffen. Die Ergebnisse der Meerschweinchenversuche erbrachten zahlenmäßig ein gleichartiges Bild. Versuche mit Physostigmin ließen nur geringe Schwellenänderungen erkennen, die noch in den Bereich biologischer Fehlergrenzen einzuordnen waren.

Auch beim *Atropin* (3, 10 und 30 mg/kg) konnten wir mit den beiden von uns verwendeten Stromformen wie auch durch Cardiazol keine Veränderungen der Krampfschwellen ermitteln und damit die Ergebnisse von Wolf bestätigen.

Da die bisherigen Resultate der Veränderungen der Krampfschwellen durch pharmakologische Beeinflussung nicht unerhebliche Unterschiede nach variierenden Stromdurchflußzeiten ergeben haben, lag die Frage nahe, ob eine solche auch von Stoffen, die an vegetativen Ganglien angreifen, sichtbar gemacht werden könnten. Es ließ sich dabei zeigen, daß sich nach Gaben von 1 und 2 mg/kg *Nicotin* subc. für den Stromdurchfluß von 1,0 sec. eine deutlichere Herabsetzung der Schwelle einstellte als nach 0,1 sec, wo nur eine unbedeutende Krampfherabsetzung erfolgte. (Tab. IV.)

Tabelle 5.

Anzahl der Tiere	Stromdurchflußzeit in sec	Schockschwellenmittelwert vor Nikotin	10 min nach Nikotin mg/kg 1,0	2,0	Bemerkung
5	0,1	71	69	66	—
5	1,0	52	43	44	—

Weitere Versuche mit dem „Ganglienblocker" Pendiomid* ($^1/_4$ Amp) ergab weder eine Änderung der Elektro- noch der Cardiazolkrampfschwelle.

Besprechung der Ergebnisse.

Nach vorheriger Verabreichung vegetativer Pharmaka wurde eine Herabsetzung der Elektro- und Cardiazolkrampfschwelle an der Ratte und am Meerschweinchen beobachtet, die am deutlichsten nach Adrenalin für die Stromdurchflußzeiten von 0,1 und 1,0 sec sichtbar zu machen war. Gynergen, Doryl und Nicotin zeigten bei der Prüfung der Elektrokrampfschwellenwerte für kurze Reizdauer geringere Senkungen, während die Reizdauer von 1,0 sec noch eine fast 20%ige Schwellenherabsetzung ergab und Änderungen im Krampfbild auffällig waren. Durch hohe Adrenalin- und Gynergendosen wurde die Wirksamkeit dieser Stoffe besonders deutlich hervorgehoben. Die Cardiazolkrampfschwelle blieb bei allen diesen Pharmakis noch in signifikanter Weise herabgesetzt. Physostigmin, Atropin und der Ganglienblocker Pendiomid führten keine wesentliche Schwellenverschiebung herbei.

Der Einfluß, den das autonome Nervensystem auf die funktionelle Hirntätigkeit haben mag, ist noch sehr unklar. Bei der kritischen Beurteilung der von uns untersuchten Stoffe darf angesichts ihrer Gefäßwirksamkeit der Einfluß auf cerebrale Durchblutungsänderungen und ihrer Folgen nicht unberücksichtigt bleiben. Zur Klärung dieser Frage wurde von Watterson die Wirksamkeit gefäßerweiternder Stoffe auf den Ablauf des Krampfgeschehens geprüft und für Amylnitrit eine Verstärkung des Cardiazolkrampfes gefunden. Auch Stief und Szeczvedy konnten durch Natriumnitrit eine Begünstigung des Krampfbeginnes feststellen. Reitmann fand allerdings für Hunde keine Milderung der Cardiazolkrämpfe nach Amylnitrit. Auch am Menschen konnten nach Gabe gefäßerweiternder Mittel und Cardiazol keine übereinstimmenden Ergebnisse erzielt werden (Denyssen und Watterson, Watterson und MacDonald). Die Frage, ob sich wegen der auffallenden Tatsache, daß Stoffe, die zu vermehrter Hirndurchblutung führen und die Krampfschwellen herabsetzen, während z. B. Pendiomid, das u. a. den Blutdruck senkt, keine Schwellenverschiebung hervorruft, durch eine gleichzeitige Registrierung des Blutdrucks besser deuten läßt, soll in einer folgenden Mitteilung untersucht werden. Die gute Sauerstoffversorgung und Hirndurchblutung als krampffördernde Moment können immerhin durch die neueren Versuche von Ruf als einwandfrei erwiesen gelten.

Die in unseren Versuchen in Erscheinung getretene Schwellensenkung besonders nach Cardiazol und nach längerer Stromdurchflußzeit, die als tiefgreifender Eingriff in das vegetative System anzusehen ist, dürfte —

* N, N, N′, N′-3-Pentamethyl-N, N′-diaethyl-3-Aza-pentylen-1,5-diammoniumdibromid.

wie auch nach den Untersuchungen von Hall und neueren Ergebnissen von Rössel und Osswald schon vermutet — nicht nur in der Koppelung der Schwellensenkung an die Kreislaufverhältnisse und damit als Folge autonomer vasomotorischer Reaktionen der Hirngefäße zu suchen sein, sondern zum Teil in einer Störung des Vago-sympatischen Gleichgewichtes ihre Erklärung finden.

Zusammenfassung.

Die Prüfung der Wirkung vegetativer Nervengifte auf die Elektro- und Cardiazolkrampfschwellenwerte von Ratten und Meerschweinchen wurde mit verschiedenen Stromdurchflußzeiten durchgeführt (0,1 und 1,0 sec). Die Schwellensenkung trat bei der Prüfung der Cardiazol und beider Elektroschockserien nach Adrenalin am deutlichsten in Erscheinung, woraus auf eine Mitbeteiligung cerebraler Durchblutungsstörungen geschlossen wurde.

Gynergen, Doryl und Nicotin ergaben hinsichtlich der Elektrokrampfschwelle weniger signifikante Werte, während die Cardiazolkrampfschwelle deutlich herabgesetzt blieb. Die Senkung der Elektrokrampfschwelle und Änderungen des Krampfbildes waren bei längerem Stromdurchfluß wesentlich augenfälliger, woraus auf eine tiefgreifendere Wirkung dieser Anwendungsform geschlossen wurde. Physostigmin, Atropin und der „Ganglienblocker" Pendiomid zeigten für beide Stromformen und auch für Cardiazol kaum Veränderungen der Krampfschwelle.

Es wurde außer einer durch die geprüften Stoffe verursachten Änderung der Kreislaufverhältnisse im Gehirn zur Erklärung der Schwellensenkung eine Verschiebung des vago-sympatischen Gleichgewichtes für wahrscheinlich gehalten.

Literatur.

[1] Beckmann, M.: Diss. Münster 1939. — [2] Denyssen u. Watterson: J. ment. Sci. **84**, 1002 (1938). — [3] Gerlich: Arch. exp. Path. u. Pharmakol. **207**, 159 (1949). — [4] Hall: Amer. J. Psych. **95**, 553 (1938). — [5] Hess: W. R.: Monographie. — [6] Hildebrandt: Klin. Wschr. **43**, 947 (1942). — [7] Leibel u. Hall, Broc: Soc. exper. Biol. a. med. (Am.) **38**, 894 (1938). — [8] Osterwald: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **198**, 245 (1941). — [9] Reitmann: Psychiatr. neurol. Wschr. **40**, 391 (1938). — [10] Rössel u. Osswald: Klin. Wschr. **30**, 476 (1952). — [11] Ruf: Arch. Psychiatr. u. Nervenh. **187**, 97 (1951). — [12] Schoetensack u. Hann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 159 (1950). — [13] Stief u. Szecsödy: Arb. ungar. biol. Forsch. Inst. **11**, 272 (1939). — [15] Teutsch: Diss. Göttingen 1951. — [15] Watterson, J.: J. ment. Sci **85**, 904 (1939). — [16] Watterson u. MacDonald: J. ment. Sci. **85**, 392 (1939). — [17] Wolf: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **214**, 14 (1951).

Dr. H. Wienke, Bethel b. Bielefeld, Nervenabt. Sarepta, Haus Daheim.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 319—328 (1953).

Aus dem Max-Planck-Institut für Chemie in Mainz
(Direktoren: Prof. Dr. J. Mattauch und Prof. Dr. F. Strassmann).

Kreislaufuntersuchungen am Hund mit Hilfe von ^{32}P markiertem Kalium-Natrium-Polyphosphat*.

Von
Max Frimmer und Hans Götte.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. August 1952.)

Die radioaktiven Isotope haben in den letzten Jahren auch in der Kreislaufforschung Anwendungsgebiete gefunden. Diese lassen sich in 2 Gruppen aufteilen. Die erste dieser Gruppen benutzt vorwiegend das ^{24}Na, das wegen seiner energiereichen Gammastrahlung Messungen am lebenden Organismus erlaubt. Es ist damit möglich geworden, Kreislaufzeiten innerhalb beliebiger Körperabschnitte zu bestimmen. Als Spezialgebiet hat sich weiterhin die sogenannte Radiocardiographie und Radiozirkulographie entwickelt. Das ^{24}Na wird ferner zur Messung der Durchblutung verschiedenster Körperabschnitte im pathologisch-physiologischen Experiment herangezogen. Allen diesen Methoden ist gemeinsam, daß es sich um kurzdauernde Experimente handelt, bei denen die Gammastrahlung des Isotops zur Anzeige einer Blutbelieferung definierter Gefäßgebiete vom Ort der Injektion her benutzt wird. Die zweite Gruppe der Methoden befaßt sich mit der Markierung geformter oder ungeformter Blutbestandteile, welche den Kreislauf innerhalb des Versuchszeitraums nicht, oder nur zu geringem Teil verlassen. Erythrocyten können mit ^{55}Fe, ^{32}P, ^{51}Cr nach verschiedenen Methoden markiert werden[1–3], während man die Eiweißkörper des Blutplasmas mit ^{131}J ohne Einbuße an biologischer Eigenart zu indizieren vermag[4]. Dieser zweiten Gruppe von Untersuchungen ist gemeinsam, daß vorwiegend Verteilungsprobleme behandelt werden. So kann mit Hilfe von markierten Erythrocyten und Blutplasmaeiweißkörpern das Erythrocyten- und Plasmavolumen durch Verdünnungsanalyse bestimmt werden[1–5]. Ferner ist es möglich durch Aufnahme einer Konzentrationskurve des arteriellen Blutes, nach intravenöser Injektion markierter Erythrocyten, das

* Für die in einer vorangegangenen Publikation (11) benutzte Nomenklatur Kalium-Natrium-Polymetaphosphat (PMP) wurde gemäß neueren Vorstellungen über die Struktur der Verbindung die zutreffendere Bezeichnung Kalium-Natrium-Polyphosphat (PP) gewählt.

Schlagvolumen zu berechnen und am pathologischen Kreislauf aus der Form dieser Kurve Schlüsse auf Restblut, verzögerte Durchmischung, verlängerte Umlaufzeit und dergleichen zu ziehen[6–8]. Darüber hinaus erlauben markierte Erythrocyten auch am Menschen das Blutvolumen einzelner Organe während operativer Eingriffe zu ermitteln[9].

Ein methodischer Nachteil der Erythrocytenmarkierung ist darin zu sehen, daß das Präparat für jeden Versuch neu dargestellt werden muß, da einerseits die Lebensdauer isolierter Blutzellen beschränkt ist, andererseits der radioaktive Phosphor geschädigte Erythrocytenmembranen

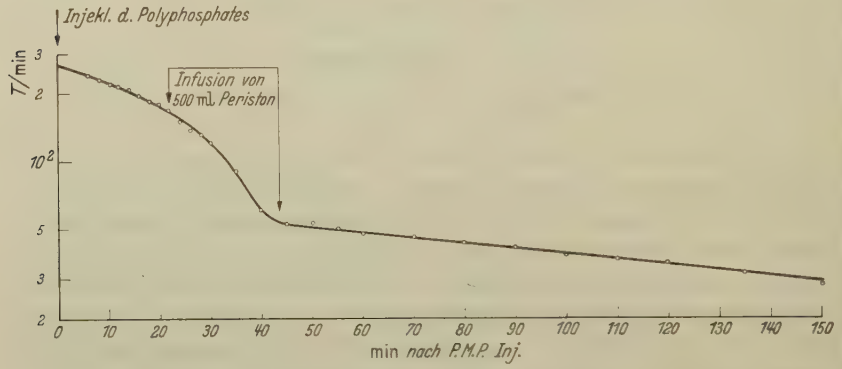


Abb. 1. Verhalten der Polyphosphatelimination bei plethorischer Peristoninfusion.

durchwandern kann und zu erheblichen Anteilen in der Außenflüssigkeit erscheint. Etwas günstiger liegen die Verhältnisse beim ^{131}J markierten Serumalbumin, das aber bei längerer Aufbewahrung stark durch bakterielle Infektion gefährdet ist, falls die Darstellung, insbesondere die der Jodierung nachfolgende Dialyse nicht unter streng sterilen Kautelen erfolgt. Diese Schwierigkeiten rechtfertigen die Suche nach einem geeigneten kolloidalen Produkt, welches leicht steril herstellbar ist und nach einmaliger Darstellung, im Rahmen der durch die Halbwertzeit des Isotops gegebenen Verhältnisse, längere Zeit zu Untersuchungen benutzt werden kann. Eine solche Möglichkeit wäre z. B. in der Markierung von Periston mit ^{14}C zu sehen. Bedauerlicherweise eignet sich jedoch der ^{14}C wegen seiner sehr langen Halbwertzeit (Strahlenschäden) und der ihm eigenen Meßschwierigkeiten nicht für eine Routinemethode. Andere, nicht organische Kolloide haben jedoch nach dem bisherigen Stand des Wissens durchweg die Eigenschaft vom RES in mehr oder minder kurzer Frist aus dem Blut eliminiert und gespeichert zu werden. In Voruntersuchungen[10–12] konnte festgestellt werden, daß ein von Tammann erstmalig beschriebenes, hochpolymeres Phosphat[13], das Kalium-Natrium-Polyphosphat (PP) vom RES nach Art einer extrarenalen Clearence exponentiell aus dem Blut eliminiert wird[11]. Innerhalb weniger Tage

wird das im RES gespeicherte PP fermentativ abgebaut, wobei die Bruchstücke entweder im Harn erscheinen oder als Monophosphat in den intermediären Stoffwechsel eingehen[12]. Damit ist eine langdauernde Speicherung des PP in Organen ausgeschlossen. Verwendet man für die Versuche Präparate von hoher spezifischer Aktivität und geringer gewichtsmäßiger Dosis, so ist die Gefahr einer Speicherkrankheit a priori ausgeschlossen. Die bei den zu beschreibenden Kreislauf-

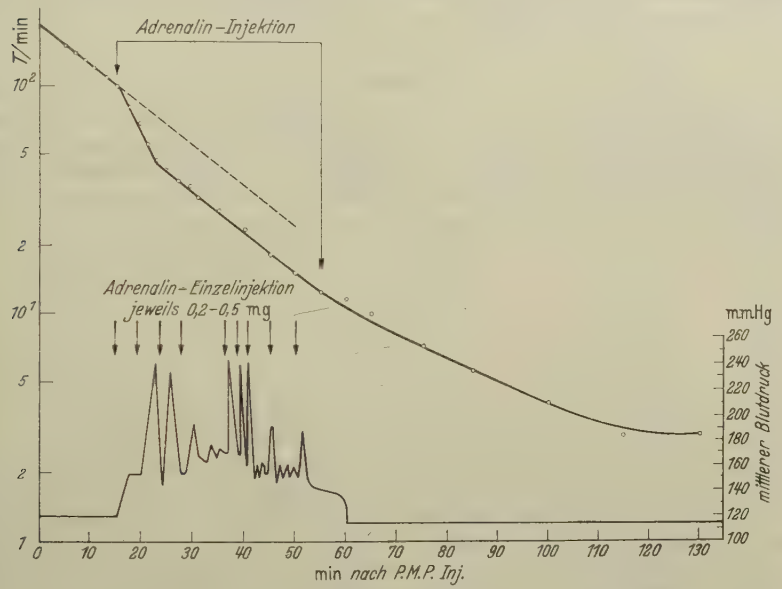


Abb. 2. Verhalten der Polyphosphatelimination und des mittleren Blutdrucks nach Adrenalininjektionen.

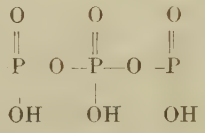
versuchen nach erfolgter Speicherung in den Organen gemessenen PP-Konzentrationen bewegen sich in der Größenanordnung von einigen Gamma pro Gramm Organ.

Da die Elimination des intravenös injizierten PP bei geeigneten Versuchsbedingungen reproduzierbar über weite Strecken exponentiell erfolgt, erscheint es möglich, durch Extrapolation auf die Zeit Null, diejenige PP-Konzentration zu ermitteln, die im Augenblick der Injektion herrschen würde, falls eine Durchmischung mit dem Gesamtblut spontan erfolgen würde. Der extrapolierte Wert entspräche somit bei den Erythrocytenmethoden dem sich nach erfolgter Durchmischung einstellenden Konzentrationsniveau. Damit müßte theoretisch die Bestimmung des Plasmavolumens möglich sein. Wie an anderer Stelle berichtet wird[10], zeigt der Vergleich, der mit dem eben beschriebenen Prinzip

ermittelten Blutvolumina, mit der Jod-Albumin-Methode und der Erythrocytenmethode im Rahmen der biologischen Schwankung befriedigende Übereinstimmung. In der vorliegenden Arbeit sollen die Anwendungsmöglichkeiten der Methode im dynamischen Kreislaufexperiment geprüft werden, ferner erlauben die gewonnenen Ergebnisse allgemeine Schlüsse bezüglich des Anwendungsbereiches der Farbstoffmethoden. Darüber hinaus soll eine Reihe von Beobachtungen mitgeteilt werden, die die Verwendung der PP-Methode über das Gebiet der eigentlichen Blutvolumenbestimmung hinaus ergab.

Methodik.

Das in den Versuchen benutzte PP ist in wäßriger Lösung eine durchsichtige, zähflüssige Masse, die bei Zugabe von Ionen deutlich an Viscosität abnimmt. Das in Kaliumrhodanidlösung bestimmte Molekulargewicht (Ultrazentrifuge) beträgt etwa 100000. Auf Grund der hohen Viscosität muß eine Fadenstruktur angenommen werden. Die Strukturformel wird wie folgt angegeben:



Dabei können einzelne Wasserstoffatome durch Natrium oder Kalium ersetzt sein. Die Verbindung zeigt dann neutrale Reaktion.

Die Darstellung geschieht auf folgende Weise: Monokaliumphosphat wird im Platintiegel über 20 min auf Rotglut erhitzt und gibt dabei quantitativ sein Wasser ab. Die Masse sintert dabei, ohne zu schmelzen, zusammen. Das erhaltene Produkt wird nach Erkalten pulverisiert und mit zwei Äquivalenten NaCl in konzentrierter wäßriger Lösung versetzt. Dabei quillt das Produkt zu einer zähen Masse auf, die ihrerseits in Wasser löslich ist. Durch Fällung des entstandenen Polyphosphats mit Alkohol sowie durch Waschen und Durchkneten des Niederschlags mit Alkohol kann dieser chlorfrei gemacht werden. Daraufhin wird der Niederschlag erneut in Wasser oder besser in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Die Markierung mit ^{32}P erfolgt durch Vermischung des Monophosphats mit radioaktivem Phosphat und Umkristallisieren. Eine genaue Darstellungsvorschrift wird an anderer Stelle veröffentlicht[10]. Die Bestimmung des PP-Gehaltes geschieht durch Eindampfen eines aliquoten Teiles und Wägung, während die Radioaktivität nach starker Verdünnung eines aliquoten Teiles der Lösung durch Messung im Flüssigkeitszählrohr bestimmt wird. Aus beiden Daten läßt sich die spezifische Aktivität des Präparates errechnen (Teilchen pro Minute pro Milligramm Trockensubstanz).

Die Versuche wurden an einem heterogenen Material von Hunden durchgeführt. In Pernoctonnarkose wurden jeweils in der Leistenbeuge beide Venae und Arteriae femorales freigelegt. Die eine Vene diente dabei grundsätzlich zur Injektion des Präparates sowie der zu testenden Pharmaka, während die Blutentnahmen aus der anderen Vene erfolgten. Aderlässe wurden jeweils an einer der Femoralarterien vorgenommen. Bei einzelnen Versuchen wurde der mittlere Blutdruck blutig mit Hilfe eines Ludwigschen Manometers registriert (A. carotis). In den aus den Protokollen ersichtlichen Zeitabständen wurde mit einer geeichten Spritze jeweils

1 cm³ Blut entnommen und nach Vermischung mit 9 cm³ 3,8%iger Natriumcitratlösung in einem GEIGER-MÜLLER-Zählrohr für Flüssigkeiten gemessen. Die so erhaltenen Teilchenzahlen pro Minute wurden in logarithmischem Maßstab gegen die Zeit aufgetragen. Aus statistischen Gründen müssen jeweils mindestens 1000 Teilchen ausgezählt werden.

Die beschriebene Methode unterscheidet sich, abgesehen vom exponentiellen Verlauf der PP-Konzentration und der dadurch nötigen Extrapolation, noch in einem weiteren Punkt von den bisher gebräuchlichen colorimetrischen und radiochemischen Blutvolumenbestimmungsmethoden. Alle diese Methoden bestimmen nämlich entweder das Erythrocyten- oder das Plasmavolumen und errechnen unter Einbeziehung des Hämatokritwertes das Blutvolumen. Im Falle der oben beschriebenen Methode ist es durch Anwendung von Flüssigkeitszählrohren möglich, die in einem abgemessenem Teil Vollblut enthaltene Konzentration des zur Verdünnungsanalyse enthaltenen Agens zu bestimmen. Unberücksichtigt bleibt dabei allerdings die in neuerer Zeit häufig diskutierte Beobachtung[14], nach der nicht unbeträchtliche Unterschiede zwischen dem Hämatokrit des peripheren Blutes und dem Gesamtbluthämatokrit bestehen sollen. Dieser Befund wird nach anderen Untersuchungen nicht bestätigt[15]. Für die in der vorliegenden Arbeit behandelten Fragestellung dürfte die aufgezeigte Problematik zunächst von untergeordnetem Interesse sein. Es ist jedoch ohne besondere Schwierigkeiten möglich, den verfeinerten Anforderungen durch eine Modifikation gerecht zu werden.

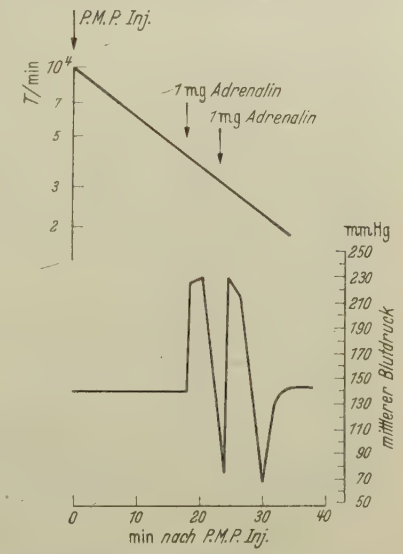


Abb. 3.
Verhalten der Polyphosphatelimination und des mittleren Blutdrucks nach Adrenalininjektionen beim splenektomierten Hund.

Die PP-Methode ist ihrem Wesen nach eine Plasmavolumenbestimmung. Dies läßt sich zeigen, wenn man das verdünnte Citratblut zentrifugiert und die sedimentierten Blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung wäscht. Man findet dann praktisch die gesamte Aktivität im Plasma wieder, während die Erythrocyten PP-frei sind. Wollte man also den Gesamtbluthämatokrit berücksichtigen, so wäre das Plasmavolumen durch Messung eines aliquoten Teils des Blutplasmas zu bestimmen, während das Gesamterythrocytenvolumen im Simultanversuch nach der bekannten ^{34}P-Methode ermittelt werden müßte. Die Technik des Vorgehens ist dabei folgende: unmittelbar vor oder nach der PP-Injektion wird ein abgemessenes Volumen einer Suspension markierter Erythrocyten injiziert. Die entnommenen Citratblutproben werden zentrifugiert. In einem aliquoten Teil des Plasmas erfolgt nach entsprechender Verdünnung die Messung der PP-Aktivität. Nach Absaugen des restlichen Plasmas wird das Zentrifugat vorsichtig mit Ringerlösung gewaschen und erneut zentrifugiert. Die Aktivität der Erythrocyten kann entweder nach gleichmäßiger Verteilung und Eintrocknen auf einem Aluminiumschälchen unter einem Fensterzählrohr oder nach Aufschwemmung in physioloigscher Kochsalzlösung im Flüssigkeitszählrohr gemessen werden.

Die Messung der zu injizierenden Erythrocytensuspension erfolgt selbstverständlich in analoger Weise. Die Aktivität der Erythrocyten wird am besten auf Trockengewichtseinheiten bezogen, während man die PP-Aktivität besser auf Kubikzentimeter Plasma berechnet. Die Beziehung Trockengewicht der Erythrocyten zu Erythrocytenvolumen kann in Vorversuchen für jede Tierart bestimmt werden.

Für die Mehrzahl pharmakodynamischer Problemstellungen dürfte man jedoch mit der oben beschriebenen einfacheren Methodik auskommen. Beim pharmakodynamischen und pathophysiologischen Experiment spielt doch vielfach weniger die Exaktheit des Absolutwertes als die deutliche Wiedergabe der relativen Blutvolumenveränderungen die entscheidende Rolle.

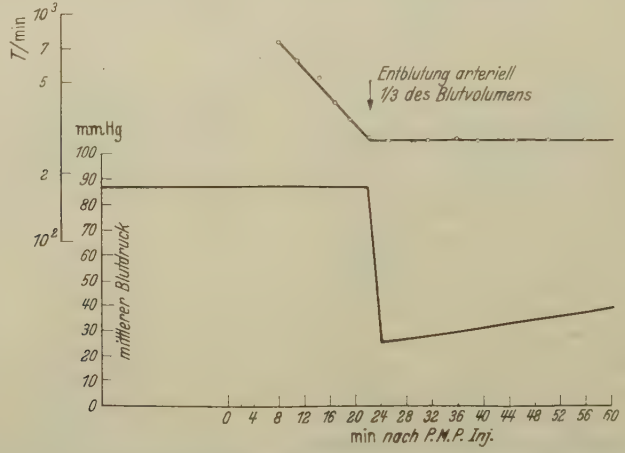


Abb. 4. Verhalten der Polyphosphatelimination und des mittleren Blutdrucks beim Entblutungsschock.

Die vorliegenden Untersuchungen sollen sich vorwiegend mit der Brauchbarkeit der PP-Methode im dynamischen Kreislaufexperiment befassen. Darüber hinaus soll die Frage gestellt werden, ob andere Blutvolumenbestimmungsmethoden, bei denen gleichfalls eine Extrapolation nötig ist (z. B. Farbstoffmethoden), mit genügender Sicherheit im dynamischen Experiment verwendet werden können. Es kann nicht bezweifelt werden, daß eine von Wuhrmann und Wunderly* zitierte Berechnungsvorschrift für die Evans-Blau-Methode unter den von Wollheim[16] stets erforderten Grundsatzbedingungen zu angenähert richtigen und reproduzierbaren Werten führt. Im Anfangsteil solcher Kurven ist der sogenannte Schwundfaktor enthalten. Darunter wird die rasche Elimination eines gewissen Anteils des Farbstoffs verstanden. Da die schnelle Komponente der Elimination bei den Farbstoffmethoden in kurzer Zeit abläuft, ist sie einer exakteren Analyse schlecht zugänglich. Die ihr wesensverwandte, über lange Strecken exponentiell erfolgende

* Wuhrmann u. Wunderly: Die Bluteiweißkörper des Menschen. 2. Auflage 1952. Benno Schwabe u. Co. Verlag, Basel.

Elimination des PP erlaubt hingegen eine Untersuchung des Kurvenverlaufs bei Veränderung der Kreislaufverhältnisse. Man wird erwarten können, daß die Eliminationsgeschwindigkeit abhängig ist von der Affinität des adsorbierenden Gewebes, ferner von der pro Zeiteinheit durchfließenden Blutmenge und von der flächenmäßigen Ausdehnung des adsorbierenden Gewebes. Im kreislaufdynamischen Experiment wird man mit dem ersten der Faktoren in der Regel nicht zu rechnen haben. Die Durchblutungsverhältnisse in den PP adsorbierenden Kapillargebieten dürften dabei die entscheidende Rolle spielen.

Da das PP vorwiegend in Leber und Milz angereichert wird[11], ist anzunehmen, daß bei Veränderungen der Durchblutung dieser Organe sich auch die Clearencegröße verschieben wird. Dies bedeutet, daß die normalerweise etwa eine Stunde nach PP-Injektion streng exponentiell verlaufende Konzentrationskurve vom Moment der Durchblutungsänderung an in einer neuen Richtung verlaufen müßte. Ein ähnliches Verhalten wäre zu erwarten bei Veränderung der Durchblutung eines größeren anderen Kapillargebietes, das nicht dem Leber-Milz-Kreislauf angehört. Da jedoch die Affinität von Leber und Milz für PP um vieles größer ist als beispielsweise die der Skeletmuskulatur, müssen sich Änderungen im Leber-Milz-Kreislauf bezüglich der Eliminationsgeschwindigkeit von PP in stärkerem Maße bemerkbar machen. Eine Änderung der Steilheit des Konzentrationsabfalls ist darüber hinaus bei Verdünnung oder Eindickung des Blutes zu erwarten. Veränderungen im Ablauf der Konzentrationszeitkurve sollen im folgenden an pharmakodynamischen und pathophysiologischen Modellen untersucht werden.

Ergebnisse und Diskussion.

Abb. 1 zeigt das Verhalten der Konzentrationszeitkurve (KZK) unter Einwirkung einer plethorischen Infusion von Periston im Verhältnis 1:1. Die Kurve nimmt während der Dauer der Verdünnung einen steileren Verlauf, um hinterher etwas flacher als zu Beginn des Versuches weiterzulaufen. Ganz ähnliche Verhältnisse ergeben sich unter Einwirkung von Adrenalin (Abb. 2). Die auftretende Stufe ist unabhängig von der Größe der Adrenalindosis, von der Dauer der Adrenalininfusion und von der Größenordnung der resultierenden Blutdruckerhöhung. Am splenektomierten Tier tritt unter Adrenalin keine Veränderung der KZK auf (Abb. 3). Daraus kann geschlossen werden, daß die nach Adrenalingaben auftretende Stufe eine Folge der Milzkontraktion ist. Da die Eliminationsfähigkeit der Milz für PP verhältnismäßig groß ist und da der Blutdurchfluß im Vergleich zum Speicherungsvolumen relativ klein ist, kann erwartet werden, daß das ausgeschüttete Milzblut arm an PP ist und somit zu einer Verdünnung des im übrigen Kreislauf noch stärker konzentrierten PP führt.

Ein völlig anderes Verhalten zeigt die KZK im Entblutungsschock (Abb. 4). Die KZK nähert sich je nach der Härte der Versuchsbedingungen der Richtung der Abszisse, d. h. die PP-Elimination nimmt deutlich ab oder hört ganz auf. Dies bedeutet eine Einstellung des Blutdurchflusses durch die PP resorbierenden Gewebsbezirke und ist im Sinne einer Zentralisation des Kreislaufs aufzufassen. Ganz ähnliche Verhältnisse ergeben sich beim Insulinschock. Ebenso wie die Erhöhung des mittleren Blutdrucks unter Adrenalin keinen Einfluß auf die Größe der PP-Clearence hat, kommt auch im Schock nicht der Blutdrucksenkung die Ursache ihrer Verminderung zu, sondern der mit ihr in Zusammenhang stehenden verminderten Durchblutung von PP adsorbierenden Gewebsbezirken, besonders Leber und Milz. Um diese Tatsache zu erhärten, wurde die Einwirkung von Pendiomid auf den Verlauf der KZK untersucht. Pendiomid (Ganglionic blocker/Ciba) wirkt in den gebräuchlichen Dosierungen nachhaltig depressorisch. Nach Bein u. Meier[17] ist dabei die mesenteriale Durchblutung gesteigert. Wie Abb. 5 zeigt, nimmt trotz der Blutdrucksenkung die Eliminationsgeschwindigkeit für PP signifikant zu. Die KZK zeigt nicht wie beim Adrenalin stufenförmigen Verlauf, sondern die Richtungsänderung wird über die Dauer des Versuches beibehalten. Diese Tatsachen sprechen für eine dominierende Rolle der intestinalen Durchblutung für den Verlauf der KZK von PP. Die PP-Methode, die unter geeigneten Versuchsbedingungen auch beim Menschen anwendbar sein dürfte[10], ergibt somit eine Möglichkeit, im dynamischen Kreislaufexperiment Aussagen über Veränderungen der mit strömenden Blut in Berührung stehenden Kapillarendothelfläche zu machen, wobei der Durchblutung von Leber und Milz wohl eine wichtige Rolle zufällt.

Es liegt auf der Hand, daß sich aus der Veränderlichkeit des Schwundfaktors auch Konsequenzen für die Anwendung der Farbstoffmethoden im dynamischen Kreislaufexperiment ergeben. Die bei diesen Methoden unter Grundumsatzbedingungen zur Extrapolation notwendigen wenigen Meßpunkte dürften im dynamischen Experiment zur kritischen Beurteilung der Farbstoff-KZK häufig nicht ausreichen. Diese Tatsachen dürften als weiterer Punkt zu den von Remmer und anderen Autoren[18] kritisierten Unsicherheitsfaktoren der Farbstoffmethoden beobachtet werden. Zum Schluß sei noch auf die Möglichkeit einer mehrmals hintereinander durchgeführten Blutvolumenbestimmung mit der PP-Methode hingewiesen. Es ist dabei nicht erforderlich vor der erneuten PP-Injektion bis zur völligen Elimination des von der ersten Injektion stammenden PP zu warten. Kurz vor der Wiederholung der Injektion wird die noch im Blute bestehende PP-Konzentration bestimmt und anschließend von dem nach erneuter Injektion durch Extrapolation gewonnenen Wert in Abzug gebracht. Es ist dabei gleichgültig, an welchem

Punkt der vorangegangenen KZK die Zweitinjektion erfolgt. Für die Blutvolumenbestimmung ist eine Aufnahme der ganzen KZK nicht erforderlich. Es hat sich bei den Versuchen am Hund als ausreichend erwiesen, 5 min nach der Injektion die erste Blutprobe zu entnehmen und in Abständen von 2 min weitere 4 Messungen folgen zu lassen. Falls durch die gewonnenen Punkte eine saubere Extrapolation nicht möglich ist, kann die Bestimmung nicht verwertet werden. In seltenen Fällen ist

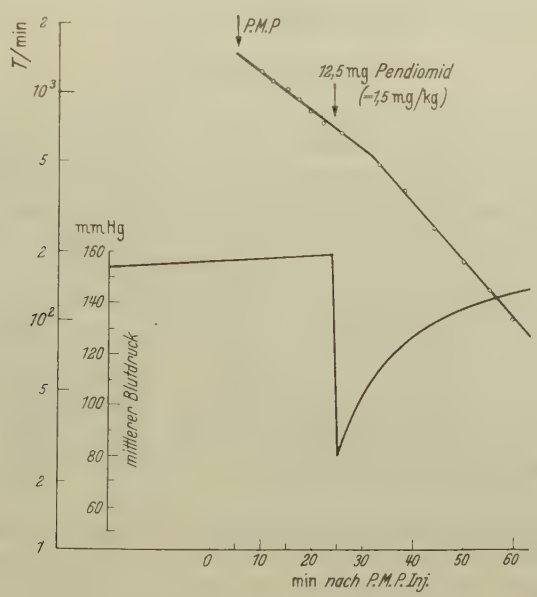


Abb. 5. Verhalten der Polyphosphatelimination und des mittleren Blutdrucks nach i. v. Injektion von Pendiomid.

beim Fünfminutenwert die Durchmischung noch nicht restlos erfolgt, während die übrigen Punkte einen exponentialen Verlauf zeigen. Andere Abweichungen sind auf Meßfehler oder Änderungen der Hämodynamik zurückzuführen.

Zusammenfassung.

1. Radioaktiv markiertes Polyphosphat wird aus der Blutbahn durch das RES exponentiell eliminiert. Durch Extrapolation ist die zur Zeit der Injektion bestehende PP-Konzentration zu ermitteln. Aus dieser Tatsache wird eine Methode zur Bestimmung des Blut-Volumens abgeleitet.

2. Die Eliminationsgeschwindigkeit kann sich verändern durch Verdünnung des Blutes, Kontraktion der Milz, Zentralisation des Kreislaufs,

verminderte und vermehrte Durchblutung von Leber und Milz oder anderer großer Kapillargebiete.

3. Eine direkte Abhängigkeit vom mittleren Blutdruck (in der A. carotis) besteht nicht.

4. Die Konsequenzen der vorliegenden Untersuchungen für die Farbstoffmethoden zur Blutvolumenuntersuchung werden diskutiert.

5. Es wird eine Methode zur mehrfach hintereinander erfolgenden Blutvolumenbestimmung beschrieben.

Literatur.

[1] Wahn, P. F., W. F. Bale u. W. M. Balfour: Amer. J. Physiol. **135**, 600 (1942). — [2] Wahn, L., u. G. Hevesey: Acta physiol. Scandinavia **1**, 3 (1940); **4**, 376 (1942). — [3] Sterling, K., u. S. J. Gray: J. of Clin. Invest. **29**, 1614 (1950); **29**, 1604 (1950). — [4] Crispell, K. R., B. Porter u. R. T. Nieset: J. of Clin. Invest. **29**, 513 (1950). — [5] Nylin: Brit. Heart J., **7**, 81 (1945). — [6] Nylin, G., u. H. Celander: Circulation **1**, 76 (1950). — [7] Nylin, G., u. S. Hedlund: Amer. Heart J. **33**, 770 (1947). — [8] Friedman, C. E.: Amer. Heart J. **39**. 397 (1950). — [9] Nylin, G.: Amer. Heart J. **34**, 174 (1947). — [10] Götte, H., u. M. Frimmer: Angew. Chem. 1952 (in Vorbereitung). — [11] Frimmer, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **217**, 91 (1952.) — [12] Götte, H., u. M. Frimmer 1952 (in Vorbereitung) [Naturforschung]. — [13] Tammann, G.: Z. Physik. Chem. **6**, 122 (1890). — [14] Wassermann, Tse-Fei Yoh u. Rashkoff: J. Lab. Clin. Med. **37**, 342 (1951). — [15] Eifert, M.: Z. f. Klin. Med. **147**, 437 (1951). — [16] Wollheim: Verhandl. d. Dtsch. Ges. f. Kreislaufforschung **16**. 75 (1950). — [17] Bein, H. J., u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **81**, 446 (1951). — [18] Remmer, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 421 (1950).

Dr. Max Frimmer, Max-Planck-Institut für Chemie, Mainz, Saarstraße 23.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 329—336 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf (Direktor: Prof. Dr. F. Hahn).

Beeinflussung der Urethanhämolyse durch Schwermetalle*.

Von

R. Ruge und W. Rummel.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juni 1952.)

Heubner[5] verdanken wir den bisher umfassendsten Überblick über die allgemeinen, pharmakologisch-bakteriologischen Wirkungen der Schwermetalle. Man hat sich auch seitdem immer wieder mit Fragestellungen aus diesem Gebiet beschäftigt. Jacobs[6], Wilbrandt[11] und Le Fevre[10] haben ihre Aufmerksamkeit dabei *funktionellen* Eigenschaften der Erythrocytenmembran geschenkt, während Jung[7] mit dem Elektronenmikroskop naturgemäß mehr das *morphologische* Verhalten der Membran unter der Einwirkung von Schwermetallen vor Augen hatte.

Unsere Fragestellung knüpft an das an, was Clark[4] über die Wirkung von Schwermetallen auf Fermente und Zellen dargelegt hat. Er schreibt am Ende jenes Kapitels, in dem er an Beispielen die lineare Beziehung zwischen Schwermetallkonzentration und Grad der Hemmung eines Fermentes aufzeigt: "other measurable actions of metals are the haemolysis of red blood corpuscles and the death of bacteria and in both these cases an *all or non* effect is produced". Diese Äußerung geht auf den Tatbestand zurück, daß alle Schwermetallkonzentrationen oberhalb eines kritischen Punktes die Erythrocytenmembran durch Gerbung abdichten, so daß nicht einmal starke Lysine zur Hämolyse führen, und alle Schwermetallkonzentrationen unterhalb des kritischen Punktes verursachen selbst Hämolyse oder sind unwirksam. Diese Erscheinung wurde auch im Lichte der Arndt-Schulzschen Regel gesehen und man sagte: kleine Dosen erhöhen die Permeabilität und große setzen sie herab. Beide Wirkungen müssen aber auseinandergehalten werden, da keine Kontinuität besteht und beide verschiedene Ursachen haben.

Unsere Experimente beschränken sich darauf, gemessen am hämolytischen Effekt, die Beziehung von *Konzentration* und *Wirkung* für verschiedene Schwermetalle zu erfassen. Zu diesem Zweck lassen wir einfach die zu prüfende Schwermetallkonzentration auf eine Urethanhämolyse einwirken und messen den Einfluß auf die Hämolyse*geschwindigkeit*.

* Herrn Prof. Dr. W. Heubner zum 75. Geburtstag in Verehrung gewidmet.

Methodik.

Die Versuche wurden mit menschlichen Erythrocyten durchgeführt. Es wurden folgende Schwermetallsalze verwandt: $HgCl_2$, $AuCl_3$, $AgNO_3$, $Pb(C_2H_3O_2)_2$, $CuSO_4$, $CuCl_2$, $ZnSO_4$, $CoCl_2$.

1. Herstellung der Erythrocytensuspension: Das frisch entnommene defibrinierte Blut wurde bei 2000 Umdrehungen 10 min lang zentrifugiert und dann nach Abheben des Serums 1 cm³ Erythrocytenbrei in 19 cm³ 0,9% Natriumchloridlösung suspendiert. Für die Versuche mit $AgNO_3$ wurden die Erythrocyten 2mal gewaschen und dann in isotonischer Na_2SO_4-Lösung suspendiert, damit durch Cl-Ionen die Ag-Ionenkonzentration nicht undefinierbar herabgesetzt wird.

2. Verwandte Stammlösungen: $HgCl_2$, $CoCl_2$, $ZnSO_4$, $AuCl_3$, $AgNO_3$ jeweils 10^{-3} g Ion/l (Abkürzung: gI), $CuSO_4$, $CuCl_2$ 10^{-2} gI und $Pb(C_2H_3O_2)_2$ $2{,}5 \times 10^{-4}$ gI in 0,9% NaCl-Lösung. Davon ausgehend wurden Verdünnungsreihen hergestellt, so daß die für einen Ansatz gewünschte Menge jeweils in 0,1 cm³ enthalten war. Äthylurethan 10% in 0,9% NaCl-Lösung.

3. Zusammensetzung eines Versuchsansatzes: 2 cm³ Äthylurethan (Endkonzentration beträgt dabei 7,84%), 0,4 cm³ isotonischen Phosphatpuffer (p_H 7,4) (11), 0,1 cm³ der zu prüfenden Schwermetall-Lösung, 0,05 cm³ der 5% Erythrocytensuspension. Dieser Ansatz wurde in eine 5 mm Küvette gefüllt und Beginn, Verlauf und Ende der Hämolyse an Hand der Lichtdurchlässigkeit mit dem Pulfrichschen Stufenphotometer gemessen (Filter S 53). Bei E = 0,18 wurde die Hämolyse als beendet angesehen. Die Untersuchungen der verschiedenen Konzentrationen eines Metallsalzes wurden jeweils an einem Blut an einem Tag durchgeführt, um vergleichbare Bedingungen zu haben.

Ergebnisse.

Die Reihenfolge des Befundberichts hält sich formal an die Reihenfolge der untersuchten Schwermetalle nach fallendem Atomgewicht. Die einwirkenden Endkonzentrationen sind in g Ion/l angegeben.

1. $Pb(C_2H_3O_2)_2$: Eine Konzentration von 10^{-8} gI bewirkte gegenüber der Urethankontrolle eine Hämolyseförderung von nur 10 min. Dem messen wir keinen Wert bei, da es an der Grenze der Meßfehlerbreite liegt. Bei 5×10^{-8} gI ist die Hämolyse in dem Ansatz mit Pb^{++} bereits um über 30 min früher zu Ende als in der Kontrolle. Die Geschwindigkeit der Hämolyse nimmt mit steigender Konzentration praktisch linear zu und war am höchsten bei $2{,}5 \times 10^{-4}$ gI. Bei 5×10^{-4} gI fällt ein unlösliches Bleisalz aus. Dadurch ist eine Aussage über die Wirkung höherer Konzentrationen bei unserer Anordnung unmöglich.

2. $HgCl_2$: Schon unter dem Einfluß von 10^{-9} gI läuft die Hämolyse um mehr als 30 min rascher ab. Die stärkste Förderung ist bei 10^{-4} gI zu verzeichnen. Die Konzentrations-Wirkungskurve ist auch hier wie bei allen folgenden Fällen praktisch linear. Bei weiter steigender Konzentration fand sich von 2×10^{-4} bis $2{,}5 \times 10^{-4}$ gI eine Zone sofortigen Hämolysebeginns mit anschließender Eiweißfällung. Diese trat bei 2×10^{-4} gI nach 6 min, bei $2{,}25 \times 10^{-4}$ gI nach 12 min und bei $2{,}5 \times 10^{-4}$ gI nach 18 min ein. Darin zeigt sich, daß je mehr sich die Hg-Konzentrationen einer absoluten membrangerbenden nähern, Hämoglobin um

so verzögerter austritt, das dann der eiweißdenaturierenden Quecksilberwirkung zum Opfer fällt. Bei $2{,}75 \times 10^{-4}$ gI und allen höheren Konzentrationen sind die Erythrocytenmembranen so weit gegerbt, daß auch nach 24 Std trotz der fortwährenden Einwirkung von 7,84% Äthylurethan keine Hämolyse eintritt.

3. $AuCl_3$: Auch hiervon bewirken 10^{-9} gI als schwächste Konzentration noch eine deutliche Hämolyseförderung. Sie nimmt proportional der Konzentration zu und erreicht bei $2{,}5 \times 10^{-4}$ gI ihr Maximum. Beim Stehenlassen des bereits hämolysierten Ansatzes begann nach 20 min eine geringgradige Eiweißfällung aufzutreten. Jedoch nicht in dem Maße wie bei den Goldkonzentrationen (5×10^{-4}—$7{,}5 \times 10^{-4}$ gI), bei denen die Eiweißfällung vor Beginn der Hämolyse einsetzte.

4. $AgNO_3$: Bereits in einer Verdünnung von 10^{-10} gI ist eine Beschleunigung der Hämolyse um 40 min zu verzeichnen. Dabei muß aber daran erinnert werden, daß ein Vergleich mit den anderen Versuchsansätzen nur bedingt berechtigt ist, weil in diesem Fall die Erythrocyten 2mal gewaschen und dann in isotonische Na_2SO_4-Lösung suspendiert wurden. Die Hämolysegeschwindigkeit nimmt bis 10^{-8} gI zu. Merkwürdigerweise ist sie dann aber bei 10^{-7} gI und 10^{-6} gI nicht mehr so groß. Vielleicht läßt sich der Befund so erklären, daß durch die rasche Lyse eines Teils der Erythrocyten soviel Cl-Ionen frei werden, daß dadurch die aktuelle Ag-Ionenkonzentration vermindert wird. Denkbar ist das insofern, als sich die Wirkung gegen eine Population unterschiedlich resistenter Erythrocyten richtet. Auffällig ist jedenfalls, daß 10^{-8} gI die Hämolyse stärker förderte als die höhere Konzentration von 10^{-7} und 10^{-6} gI. Erst bei 10^{-5} gI lief die Hämolyse in dem Maße rascher ab, wie es bei einem linearen Verlauf der Konzentrations-Wirkungsgruppe nach den ersten Werten zu erwarten war. Das Maximum lag bei 5×10^{-5} gI. Bei 10^{-4} gI und 10^{-3} gI trat die Hämolyse schlagartig ein, so daß auch mikroskopisch nach 30 sec keine Blutkörperchen mehr nachzuweisen waren. Sogleich setzte milchige Trübung ein, die allmählich grobflockig wurde.

5. $ZnSO_4$: Die Hämolysegeschwindigkeit wird von 10^{-7} bis $2{,}5 \times 10^{-4}$ gI fortlaufend erhöht. Bei 5×10^{-4} bis $7{,}5 \times 10^{-4}$ gI sieht man nach sofortigem Hämolysebeginn zunehmende Trübung, die bei 5×10^{-4} gI nach 30 min einsetzt und sich nach weiteren 70 min wieder löst. Das kann eine Hämolyseverzögerung vortäuschen. Bei $7{,}5 \times 10^{-4}$ gI verschwand die flockige Trübung erst nach einem Zeitraum, in dem die Urethanhämolyse bereits abgelaufen war. Mikroskopisch ließen sich aber schon vorher keine Erythrocyten mehr nachweisen. Der Gerbeffekt trat bei 10^{-3} gI auf.

6. $CuCl_2$ und $CuSO_4$: Beide können gemeinsam abgehandelt werden, da durch die unterschiedlichen Anionen der Verlauf der Konzentrations-

Wirkungskurve nicht wesentlich verändert wird. Zwischen 10^{-9} und 10^{-8} gI tritt die hämolysefördernde Wirkung ein und ist zwischen 10^{-5} und 10^{-4} gI am stärksten. Der Gerbeffekt wird bei 10^{-2} gI beobachtet. Die dazwischenliegenden Konzentrationen führen zur Fällung des austretenden Hämoglobins.

7. $CoCl_2$: Es vermochte erst bei 10^{-6} gI die Urethanhämolyse deutlich zu forcieren. Bei 10^{-3} gI war die Hämolysezeit am stärksten ver-

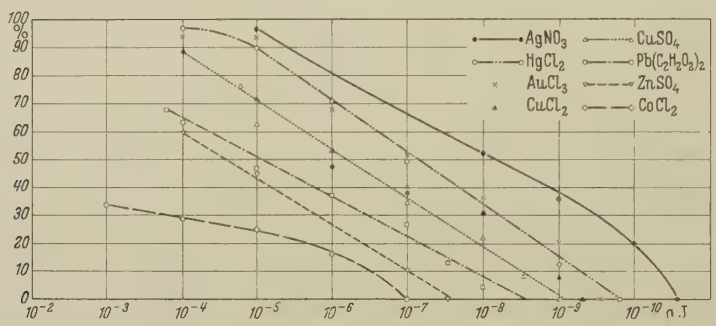


Abb. 1. Abkürzung der Hämolysezeit prozentual zu der zugehörigen Kontrolle (gI = gI/l).

kürzt. Gerbung tritt bei 10^{-2} gI ein, ehe die Hämolyse so rasch abläuft, daß man von schlagartiger Hämolyse sprechen kann. Man muß daran denken, daß bei solch hohen Schwermetallkonzentrationen der osmotische Effekt nicht zu vernachlässigen ist.

In der Tabelle sind die geprüften Schwermetalle ihrer *Wirkungsstärke* nach geordnet. Die Abb. 1 soll einen Überblick über die gewonnenen Konzentrationswirkungskurven ermöglichen.

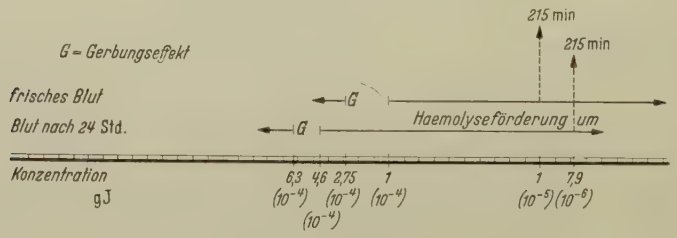


Abb. 2 (gI = gI/l).

Schließlich scheint uns noch eine Beobachtung erwähnenswert. Wenn man Blut 24 Std bei 2—4° C aufbewahrt, dann läuft die Urethanhämolyse bedeutend rascher ab als am Vortage kurz nach der Entnahme. Vergleicht man nun in beiden Fällen die Wirkung z. B. von $HgCl_2$, dann zeigt sich, daß zu einer Verkürzung der Hämolysezeit um 215 min bei frischem Blut 10^{-5} gI nötig sind und zum selben Effekt bei demselben Blut 24 Std später $7{,}9 \times 10^{-6}$ gI. Ähnlich verschiebt sich

die gerbende Konzentration von $2{,}75 \times 10^{-4}$ gI bei frischem Blut auf $6{,}3 \times 10^{-4}$ gI bei 24 Std altem Blut, d. h. eine Konzentration von 4×10^{-4} gI, die bei frischem Blut noch durch Gerbung die Urethanhämolyse hemmte, *förderte* bei demselben Blut 24 Std später die ablaufende Urethanhämolyse noch. Die schematische Darstellung (Abb. 2) gibt die Verhältnisse wieder.

Watermann[13] hat ähnliches bei der Ätherhämolyse beobachtet. Es scheint sich in beiden Fällen um den gleichen Vorgang zu handeln: die Konzentration, die den Hämolyseablauf um eine bestimmte Zeit verkürzt, verschiebt sich jeweils nach links (siehe Abb. 2); der Bereich der Wirkungsänderung, d. h. der Übergang von Hämolyseförderung

Tabelle 1.

	$CoCl_2$	$ZnSO_4$	$Pb(C_2H_3O_2)_2$	$CuSO_4$	$CuCl_4$	$HgCl_2$	$AuCl_3$	$AgNO_3$
Urethan-Kontrolle (Minuten)	240′	200′	220′	220′	220′	240′	200′	200′
Gerbung bei	10^{-2}gI/l	10^{-3}gI/l	unlösl.	10^{-2}gI/l	10^{-2} 5(10^{-3})	2,75 10^{-4}gI/l	10^{-3}gI/l	0
Sofortige, totale Hämolyse bei	0	5(10^{-4})	unlösl.	5(10^{-5})	10^{-3}gI/l	10^{-4}gI/l	2,5 × 10^{-4}m	10^{-5}gI/l
10^{-3} gI/l (a)	150′	Gerb.	70′	2′	12′	Gerb.	Gerb.	
(b)	=37%		=68%	=99%	=94%			
10^{-4} „ (a)	170′	80′	80′	10′	18′	6′	7,5′	
(b)	=29%	=60%	=63%	=95%	=91%	=97%	=96%	
10^{-5} „ (a)	180′	110′	120′	50′	60′	25′	10′	26′
(b)	=25%	=45%	=45%	=77%	=72%	=89%	=95%	=87%
10^{-6} „ (a)	200′	130′	140′	100′	100′	70′	60′	120′
(b)	=17%	=35%	=36%	=54%	=54%	=71%	=70%	=40%
10^{-7} „ (a)		180′	160′	140′	130′	120′	90′	130′
(b)		=10%	=27%	=36%	=41%	=50%	=55%	=35%
10^{-8} „ (a)			210′	170′	150′	180′	120′	110′
(b)			=5%	=23%	=32%	=25%	=40%	=45%
10^{-9} „ (a)					200′	210′	160′	130′
(b)					=9%	=12%	=20%	=35%
10^{-10} „ (a)								160′
(b)								=20%

Hämolyse-Zeiten in Minuten (a), Verkürzung der Hämolyse-Zeit um × % der Kontrolle (b).

zu -hemmung, verschiebt sich gleichfalls nach links. Die Versuchsanordnung ist konstant geblieben. Es hat sich also lediglich das Versuchsobjekt verändert. Da die Konzentration, die bei frischem Blut zur Gerbung führt, einer gewissen Mindestzeit zu ihrer Auswirkung bedarf (30 min nach Wilbrandt[14], bei ihm jedoch gemessen an der osmotischen Resistenz), kommt es zu dieser Verschiebung nach links. Die Reaktionszeit, die für eine bestimmte bei frischem Blut gerbende Schwermetallkonzentration notwendig ist, steht bei „gealtertem" Blut offenbar infolge des raschen Ablaufs der Urethanhämolyse nicht mehr zur Verfügung. Worin die „Alterung" besteht, ob lediglich in der Kalium-Natriumverschiebung, einer Folge der Stoffwechselhemmung bei niederen Temperaturen, oder ob in einer tatsächlichen Destruktion von Fermenteiweißen z. B., das muß hier offen bleiben.

Diskussion.

Es hat sich ergeben, daß tatsächlich eine praktisch lineare Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung besteht, wenn man bei steigenden Schwermetallkonzentrationen die Abkürzung der Hämolysezeit gegenüber einer Urethankontrolle mißt. Wahrscheinlich beruhen die vorkommenden Abweichungen nur auf Unzulänglichkeiten der angewandten Meßtechnik. Lediglich beim Kobalt ist eine stärkere Abweichung vom linearen Verlauf festzustellen, die besondere Ursachen haben muß. Die Kurven der 8 untersuchten Schwermetallsalze laufen nahezu parallel, so daß man diese Schwermetalle ihrer Wirksamkeit nach ordnen kann. (Siehe Tab. u. Abb. 1.) 10^{-6} gI $CuCl_2$ z. B. kürzt die Hämolysezeit um 120 min ab und 10^{-6} gI $ZnSO_4$ nur um 70 min. Dementsprechend weist $ZnSO_4$ die erste hämolyseföndernde Wirkung bei 10^{-7} gI auf und $CuCl_2$ schon bei 10^{-9} gI. Vergleichen wir die so gewonnene Reihenfolge mit der Ordnung, wie sie sich nach Maßgabe anderer Kriterien ergaben (z. B. elektrolytische Lösungsdrucke[8], Hemmung des Bakterienwachstums[9], Beschleunigung der Dehydrierung einer SH-Verbindung[2], Hemmung der Blutkatalase[3] usw.), dann ist unsere Reihe eine von 12, von denen keine mit der anderen übereinstimmt.

Ob man aus der Tatsache, daß mit der Erhöhung der Schwermetallkonzentration um einen bestimmten Betrag auch die Hämolyse um einen entsprechenden Betrag rascher abläuft, den Schluß ziehen darf, es liege deswegen im Sinne Clarks[4] als Wirkungsmechanismus eine Fermenthemmung zu Grunde, scheint fragwürdig, obgleich wir uns selbst bei der Inangriffnahme des Problems von solchen Gedanken leiten ließen. Man könnte den Eindruck, daß eine Fermenthemmung im Spiele ist, auch im Hinblick auf die hohen Verdünnungen gewinnen, die sich mit dieser Versuchsanordnung als noch deutlich wirksam erweisen.

Im Vergleich zu dem uns bisher aus der Literatur bekannten sind es die höchsten Verdünnungen. Bechhold[1] fand als niedrigste hämolytisch wirksame Konzentration $1{,}8 \times 10^{-5}$ gI $HgCl_2$, während bei uns bei gleichzeitigem Einwirken von Urethan 10^{-9} gI noch deutlich wirksam waren. Goldchlorid allein hämolysierte nach Wilbrandts[14] Feststellungen noch in einer Konzentration von $1{,}3 \times 10^{-3}$ gI, während nach den hier vorliegenden Ergebnissen 10^{-9} gI die Hämolysezeit noch deutlich verkürzten. Nach Angaben von Jung[7] treffen bei einer eben noch hämolytisch wirkenden $HgCl_2$ Konzentration $1{,}4 \times 10^{-8}$ Moleküle auf einen Erythrocyten. (Hier sei nebenbei noch darauf hingewiesen, daß bei unserer Versuchsanordnung Pb und Zn-Ionen genau so hämolysefördernd wirken, wie alle anderen Schwermetall-Ionen; denn diese beiden Schwermetallsalze führen bei der Versuchsanordnung von Jung im Gegensatz z. B. zu Hg-Ionen „lediglich zu einer Verfestigung der Membran".) In unserem Fall kommen auf einen Erythrocyten rund 61000 Goldkationen beispielsweise bei einer Konzentration von 10^{-9} gI, die den Ablauf um 40 min beschleunigt. Wenn man voraussetzt, daß es dabei zu einem monomolekularen Niederschlag auf der Erythrocytenoberfläche käme, dann würden nur 0,003% der Erythrocytenoberfläche bedeckt sein. Man kann daraus eine hohe Differenziertheit der betroffenen Orte ableiten[12], was die Hypothese unterstreichen würde, es handle sich um eine Hemmung spezieller Fermente*. Aber schließlich darf eine weitere Möglichkeit nicht unerwähnt bleiben, die Schwermetalle könnten lediglich über eine Änderung der Milieubedingungen, nämlich des r_H wirken[12]. Um aber über Vermutungen hinauszugelangen, bedarf es neuer Experimente.

Zusammenfassung.

1. Schwermetalle verkürzen in Abhängigkeit von der Konzentration die Hämolysezeit, wenn man sie auf eine ablaufende Urethanhämolyse einwirken läßt.

2. Trägt man die prozentuale Verkürzung der Hämolysezeit gegen die Schwermetallkonzentration auf, dann zeigt die Konzentrations-Wirkungskurve in fast allen Fällen einen linearen Verlauf.

3. Ag-, Hg-, Au- und Cu-Ionen beschleunigen noch in Konzentrationen zwischen 10^{-10} und 10^{-9} g Ion/l die Hämolyse merklich.

4. Auf 1 Erythrocyten entfallen bei einem Ansatz, bei dem 10^{-9} gI Gold die Hämolysezeit um 40 min abkürzt, rund 61000 Gold-Ionen, die nur 0,003% der Erythrocytenoberfläche bedecken könnten, falls es zu einer monoionalen Ablagerung käme.

* Nach den Potentialmessungen von H. Remmer u. E. Seiler (Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 214, 272 [1952]) scheinen die Schwermetallionen in niedrigen Konzentrationen tatsächlich in der Membran abgebunden zu werden.

Literatur.

[1] Bechhold, H., u. W. Kraus: Biochem. Z. **109**, 206 (1920). — [2] Bersin, Th.: Biochem. Z. **245**, 466 (1932). — [3] Bleyer, L.: Biochem. Z. **161**, 91 (1925). — [4] Clark, A. J.: Heffters Handb. d. exper. Pharm. Ergbd. **4**, 40, Berlin (1937). — [5] Heubner, W.: Heffters Handb. d. exper. Pharm. **3**, Teil 2, S. 625, Berlin 1934. — [6] Jacobs, M. H., u. S. A. Corson: Biol. Bulletin **57**, 325 (1934). — [7] Jung, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 139 (1947). — [8] Kahlo, H.: Biochem. Z. **122**, 38 (1921). — [9] Kuroya, M.: Sci. Rep. Gov. Inst. Dis. Tokyo **4**, 107 (1925). zit. Ber. ges. Physiol. **38**, 739 (1927). — [10] Le Fevre, P. G.: Biol. Bull. **93**, 224 (1947). — Le Fevre, P. G., u. R. J. Davies: J. gen. Physiol. **34**, 515 (1951). — [11] Muralt, A. von: Prakt. Physiol. 2. Aufl. Berlin 1944. — [12] Rummel, W.: Kollq. d. Physiol. chem. Ges. Mosbach 1950. Ref.: Energetik od. Organisation selektiver Permeation. — Rummel, W., u. F. Bruns: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 93 (1950). — Rummel, W., F. Bruns u. A. Thielke: Arch. Internat. Pharmacodynamie **89**, 258 (1952). — [13] Watermann, N.: Biochem. Z. **116**, 165 (1921). — [14] Wilbrandt, W., u. H. U. Wyss: Helv. Physiol. Acta **5**, 457 (1947). — Wilbrandt, W.: Helv. Physiol. Acta **6**, 750 (1948) u. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 9 (1950).

Dozent Dr. W. Rummel, Düsseldorf, Moorenstr. 5, Pharmakol. Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 337—347 (1953).

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. G. von Bergmann).

Beitrag zur Pharmakologie der Crataegus-Wirkstoffe*.

Über die Kreislaufwirkung der Triterpensäuren.

Von

Gustav Schimert und Hans Blömer.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. Mai 1952.)

Unsere Kenntnisse über die pharmakologische Wirkung des Weißdornes crataegus oxyacantha L. und Crataegus monogyna Jacqu., dessen Tinkturen bei den Alterserkrankungen des Herzens und des Gefäßsystems von zahlreichen Autoren geschätzt werden[1, 2, 3, 4, 5, 6, 7], sind zur Zeit noch als sehr lückenhaft zu bezeichnen. Auch in bezug auf die Chemie der wirksamen Bestandteile sind unsere Kenntnisse noch ungenügend[8]. Einzelne Autoren berichten über tonisierende Wirkungen am Froschherzen, die mit verschiedenen Extrakten der Blätter und Früchte von Crataegus erzielt wurden.

Solche Effekte sahen Baechler[9] mit Ätherextrakten, Seel[10] mit Fluidextrakten, Becker[11] und Neugebauer mit wäßrigen Extrakten. Die beobachteten Wirkungen wurden zum Teil auf eine Substanz vom Säurecharakter (Baechler), auf Lactone (Dieterle u. Dorner[12]) bzw. auf Glykoside (Neugebauer[13]) bezogen. Untersuchungen von Perkin u. Hummel[14] ließen auch vermuten, daß Flavone an der Wirkung beteiligt sind, nachdem Akumatsu[15], von Jenney[16] und seine Mitarbeiter die Kreislaufwirksamkeit der Flavone nachgewiesen haben. Neugebauer sah neben der herztonisierenden Wirkung seines in Alkohol und Wasser löslichen Wirkstoffes, dessen wesentlicher Anteil chemisch Glykosidcharakter hat, auch Gefäßeffekte am Froschpräparat.

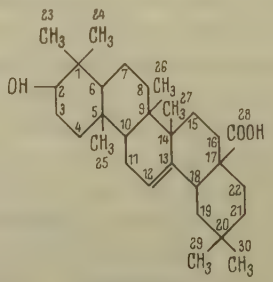
Über diese am Kaltblüter durchgeführten orientierenden Versuche hinaus wies G. Schimert[6] 1943 am vollinnervierten Hund nach intravenösen Gaben von Wirkstoffkonzentraten von Crataegus oxyacantha starke anhaltende Erweiterungen der Herzkranzgefäße nach, die auch im Hypophysinkrampf der Gefäße noch eintraten. Gleichzeitig kam es am spontan insuffizienten Herzen zu einer Frequenzverlangsamung und Tonisierung bei sinkenden Vorhofdrucken. Es war seinerzeit nicht möglich aus diesen vieldeutigen Ergebnissen am vollinnervierten Tier bindende Schlüsse auf das Vorliegen bestimmter Wirkstoffe zu ziehen. Diese Versuche schienen lediglich die klinischen Resultate, die für eine Kranzgefäßwirkung und auch eine tonisierende Wirkung sprachen, zu bestätigen. Spätere, zunächst orientierende Untersuchungen mit einzelnen

* Herrn Professor Dr. W. Heubner zum 75. Geburtstag gewidmet.

Wirkstoffreaktionen ließen G. Schimert vermuten, daß neben der von Neugebauer nachgewiesenen glykosid-artigen Wirkstoffgruppe ein stark gefäß-wirksames Prinzip in Crataegus sein muß, das an das sogenannte Crataegus-Lacton, bzw. an die Crataegussäure Baechlers gebunden zu sein schien. Deshalb wurde die „*Crataegussäure*", die inzwischen eine weitgehende chemische Klärung erfahren hat, zum Gegenstand weiterer Untersuchungen am Coronarhund gemacht.

Über die „Crataegussäure" bzw. ihre jetzt isolierten Wirkstoffe wissen wir folgendes: Baechler isolierte aus den Blättern von Crataegus 1927 ein Produkt, dem er an Hand seiner pharmakologischen Untersuchungen eine Kreislaufwirksamkeit zuschrieb, dessen Summenformel er mit $C_{32}H_{52}O_4$ angab. Er bezeichnete ihn infolge seines Säurecharakters als Crataegussäure. Dieterle u. Dorner glaubten später, daß es sich bei dieser Substanz um ein Lacton handele und führten die Bezeichnung „Crataegus-Lacton" in die Literatur ein. Sie hielten dieses „Crataegus-Lacton" auf Grund von Farbreaktionen für ein Steroid-Sapogenin. Weitere Untersuchungen zeigten jedoch, daß es sich bei dieser Substanz nicht um eine einheitlich chemische Verbindung, sondern um ein Gemisch handelt. Als Erstem glückte Ullsperger[17] die Isolierung eines kristallisierten Körpers aus diesem Produkt. Er bezeichnete ihn als Körper A. Dieser Körper erhielt später von Schindler den Namen „Crataegus-α-Sapogenin". Schindler erkannte, daß das als Crateagussäure bzw. als Crataeguslacton bezeichnete Produkt aus Triterpenderivaten besteht und isolierte aus dem nach Abtrennung von Crataegus-α-Sapogenin (= Ullspergerscher Körper A) verbleibenden Produkt, das Ullsperger als Körper C bezeichnete, nach Acetylierung die *Acetyloleanolsäure.*

Die weitere Entwicklung ergab sich dadurch, daß Zimmermann[19] schon 1944 die *Crataegusursolsäure* nachwies, deren Isolierung aus der „Crataegussäure" erst kürzlich von Bersin u. Müller[20] beschrieben wurde. Unabhängig davon gelang Bauereis[21] der Nachweis, daß die Ursolsäure mit dem Crataegus-α-Sapogenin identisch ist. Als dritten Körper isolierten kürzlich Tschesche u. Fugmann[22] *Crataegolsäure** aus dem Gemisch, so daß bisher drei Triterpenderivate, die *Oleanolsäure,* die *Ursolsäure* und die *Crataegolsäure* bzw. ihre Derivate, sich als die bisher identifizierten Bestandteile der Crataegussäure Baechlers erwiesen. Schindler fand neben diesen Körpern noch einen an die Oleanolsäure gebundenen Gelbkörper, dessen Beteiligung an der Gefäßwirksamkeit noch nicht ganz auszuschließen ist. Die Oleanolsäure besitzt die Summenformel $C_{30}H_{48}O_3$; nach der Strukturformel ist es eine Monooxy-monocarbonsäure und gehört der β-Amyrinreihe der Triterpene an.

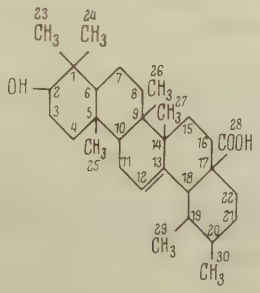


Oleanolsäure

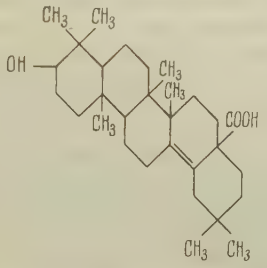
* Nach Bersin und Müller: Helvet. Chimica Acta **35**, 1891 (1952) ist die Crataegolsäure ein Gemisch von Ursol- und Oleanolsäure.

Ursolsäure hat die gleiche Summenformel, gehört aber der α-Amyrinreihe der Triterpene an, ebenso wie die Crataegolsäure, die nach FUGMANN[23] die Summenformel $C_{30}H_{48}O_4$ besitzt. Die Ursolsäure ist ebenfalls eine Monooxy-Monocarbonsäure mit beigefügter Strukturformel nach JEGER[24].

Nach FUGMANN ist aber in der Amyrinreihe die Doppelbindung nicht zwischen C_{12} und C_{13}, sondern zwischen C_{13} und C_{18} und die Methylgruppe C_{29} nicht an C_{19}, sondern wie in der β-Amyrinreihe an C_{20} gebunden. Die Strukturformel für Ursolsäure:

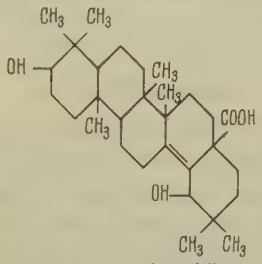


Ursolsäure



Ursolsäure nach FUGMANN

Die Crataegolsäure ist eine Dioxymonocarbonsäure. Eine kurze pharmakologische Untersuchung der Oleanol- und Ursolsäure wurde schon von WINTERSTEIN[25] und GRAHAM[26] durchgeführt.



Crataegolsäure

In Fortsetzung unserer Arbeit aus dem Jahre 1943 wurden zunächst verschiedene Wirkstoffkonzentrate aus Crataegus untersucht*. Sichere regelmäßig wiederholbare Gefäßeffekte, nach denen wir zunächst suchten, waren nur nach Gaben der sogenannten „Crataegussäure" bzw. des ungereinigten Lactons zu beobachten. Die Glykoside ergaben nur geringgradige und nicht regelmäßige Gefäßeffekte, während die Flavone in den angewandten Dosen keine nennenswerte Gefäßwirkung zeigten.

Wir untersuchten deshalb eingehend zunächst 1. die ungereinigte „Crataegussäure", 2. ein Konzentrat von Triterpensäuren, das von den sonstigen Bestandteilen weitgehend gereinigt war und 3. schließlich die

*Die verwendeten Wirkstoffe bzw. Wirkstoffkonzentrate wurden uns freundlicherweise von H. BAUEREIS, H. SCHINDLER und R. ULLSPERGER aus dem Laboratorium der Firma Dr. Willmar Schwabe, Karlsruhe, zur Verfügung gestellt.

gereinigten Wirkstoffe Oleanol-, Ursol- und Crataegolsäure bzw. ihre Natriumsalze, da sich nur diese als für den Tierversuch ausreichend löslich erwiesen.

Methodik.

Die Versuche wurden an mittelgroßen Hunden (Mischrasse) in Chloralosenarkose durchgeführt. Aufgezeichnet wurden der arterielle Blutdruck in einer Art. femoralis mit Hilfe des Broemserschen Glasplattenmanometers bzw. bei den letzten Versuchen mit einer neuen von Wetterer[27] entwickelten elektrischen Meßmethode, die Durchblutung eines intakten Kranzgefäßes meist Art. coron. dextra, einer peripheren Arterie (Art. fem. oder Art. brach.), bei einem Teil der Versuche die Durchblutung der Art. vertebralis mit Hilfe der Thermostromuhr nach Rein. Bei einzelnen Versuchen wurde auch die Durchblutung der Vena cava inf. registriert, deren Verhalten erfahrungsgemäß auf relative Änderungen des Minutenvolumens schließen läßt. Sämtliche Tiere atmeten während der Versuche bei wieder verschlossenem Thorax spontan. Die ungereinigten Wirkstoffkonzentrate, wie die gereinigten und isolierten Wirkstoffe wurden in 96%igem Alkohol in 0,5—1%igen Lösungen i. v. verabreicht. Von den reinen Triterpensäuren erwiesen sich nur ihre Natriumsalze als ausreichend und haltbar löslich, so daß eindeutige Dosierungsverhältnisse nur bei dieser Versuchsgruppe vorliegen. Zum Ausschluß der Wirkung des 96%igen Alkohols auf die Kranzgefäßdurchblutung und die übrigen Kreislaufgrößen wurden an 6 Versuchstieren Kontrollversuche bei der gleichen Methodik vorgenommen. 1—2 cm^3 96%iger Alkohol ergaben keine Veränderung der Coronardurchblutung und der anderen Kreislaufgrößen. Im übrigen stellen auch die wirkungslosen Chargen von Crataeguswirkstoffen, die wir untersucht haben und die stets in einer alkoholischen Lösung gegeben wurden, Kontrollversuche dar.

Versuchsergebnisse.

1. Die rohe ungereinigte „Crataegussäure", Crataegus Lacton, führte in einer 0,5—1%igen Lösung in 96%igem Alkohol bei 9 von 17 Versuchstieren zu einem Anstieg der Coronardurchblutung, die von wenigen Minuten bis zu 50 min andauern kann. Bei einem Versuchstier kam es zu einer leichten Senkung der Coronardurchblutung, allerdings bei abfallendem Blutdruck, bei den übrigen blieb die Kranzgefäßdurchblutung unverändert. Bei 5 Versuchstieren trat eine Senkung des Blutdruckes zwischen 15 und 30 mm Hg, bei 3 Versuchstieren eine geringe Steigerung von 10—20 mm Hg auf. Die Veränderungen des Blutdruckes sind stets nur kurzdauernd und beeinflußten das Verhalten der Kranzgefäßdurchblutung mit Ausnahme des einen oben angedeuteten Falles nicht. Wegen der infolge ungenügender Löslichkeit unklaren Dosierungsverhältnisse wird auf die tabellarische Darstellung dieser Ergebnisse verzichtet.

2. *Das gereinigte Gemisch der Triterpensäuren* wurde an 7 Versuchstieren in einer Dosis von 1—2 cm^3 einer 1%igen Lösung geprüft. Von 7 Versuchstieren reagierten 5 mit einer deutlichen langanhaltenden Steigerung der Coronardurchblutung, die ebenfalls nicht blutdruckabhängig war. In den übrigen 2 Fällen veränderte sich die Kranzgefäßdurchblutung nicht. In einem der 7 Fälle trat eine länger anhaltende

Drucksenkung von 30—40 mm Hg ein. Abb. 1 gibt die Wirkung des Triterpensäuregemisches kurvenmäßig wieder. Nach 2 cm³ der 1%igen Lösung (i. v.) steigt bei unverändertem Blutdruck die Durchblutung der Art. coron. unter geringen Schwankungen an, um nach etwa 2½ min ihren Höhepunkt zu erreichen; sie bleibt noch 30 min auf dieser Höhe stehen, um dann allmählich wieder abzusinken. Die Durchblutung der Art. vertebralis verhält sich ähnlich. Nach etwa 10 min sinkt der arterielle Blutdruck um ca. 10 mm ab, um nach weiteren 10 min (Ende der

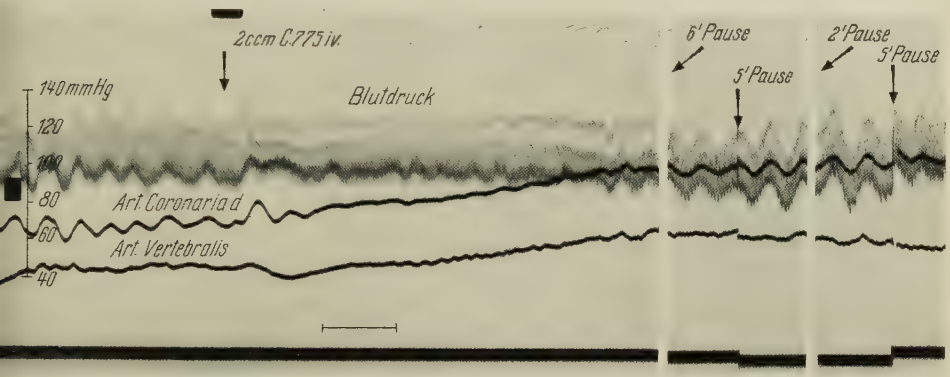


Abb. 1. Bei ↓ i.v. Injektion von 2 cm³ eines 1%igen Triterpensäure-Gemisches, gelöst in 96%igem Äthylalkohol. Registriert von oben nach unten: Blutdruck (amplitudengetreu), Durchblutung der Art. coron. d. und der Art. vertebralis. Papierablauf: 0,8 mm/sec. Hund in Chloralose-Narkose.

Kurve) etwa wieder den Ausgangswert zu erreichen. Frequenz und Rhythmus bleiben unverändert.

3. Von den *Triterpensäuren* wurden die *Oleanol- und Ursolsäure* bzw. ihre Natriumsalze an einer größeren Zahl von Versuchstieren geprüft. Die Wirkung der *Crataegolsäure*, bzw. ihres Natriumsalzes wurde nur orientierend an 2 Versuchstieren geprüft. Ihre Wirkung scheint ähnlich der der beiden ersteren Substanzen zu sein. Da die reine Ursol- und Oleanolsäure sich selbst in einer Konzentration von 0,1—0,2% in 96%igem Alkohol nur unvollständig löst, verzichten wir auf die eingehende Darstellung der Versuchsergebnisse mit diesen Substanzen. Wir sahen jedoch auch bei der unvollständig gelösten Oleanolsäure bei 6 von 13 Versuchstieren eine deutliche Zunahme der Kranzgefäßdurchblutung, die zwischen 2 und 25 min anhielt. Bei den übrigen Versuchstieren blieb die Coronardurchblutung unverändert. Der Blutdruck verhielt sich wechselnd. In 4 Fällen trat ein geringer Anstieg, in 4 Fällen eine geringe Senkung zwischen 5 und 20 mm Hg ein. Die Veränderungen der Kranzgefäßdurchblutung sind nicht druckabhängig. Bei der ebenfalls unvollständig gelösten *Ursolsäure* sahen wir bei 9 von 13 Versuchstieren einen sich zeitlich ähnlich verhaltenden Anstieg der Coronardurchblutung bei

Tabelle 1. *Natriumsalz der Oleanolsäure. Wirkung von 1—2 cm³ (je nach Größe des Versuchstieres) einer 1%igen alkoholischen Lösung.*

Nr. Prot.	Durchbl. d. Art. Coron. d.	Dauer der Wirkung	Durchbl. d. Art. Vertebr.	Dauer der Wirkung	Verhalten des Blutdruckes
20/51	Zunahme	25 min	—	—	unverändert
22/51	Zunahme	5—10 min	—	—	unverändert
22/51	Zunahme	18 –23 min	—	—	steigt nach brüskem, kurzem Abfall um 20 mm Hg an, nach 18 min um weitere 20 mm Hg
24/51	Zunahme	über 4 min	Zunahme	über 4 min	unverändert
24/51	Zunahme	1 min	Zunahme	über 8 min	sinkt leicht ab (5 mm)
25/51	—	—	unveränd.	∅	unverändert
28/51	Zunahme	über 3 min	Zunahme	über 3 min	—
28/51	Zunahme	7 min	Zunahme	1 min	sinkt um 15 mm Hg ab
28/51	Zunahme	3 min	fraglich	∅	sinkt um 10 mm Hg ab
29/51	fraglich	∅	Zunahme	über 3 min	sinkt minimal ab
30/51	unveränd.	∅	Zunahme	über 6 min	unverändert
66/51	Zunahme	5½ min	unveränd.	∅	sinkt langsam um 10 mmHg ab
68/51	Zunahme	über 40 min	Zunahme	2 min	sinkt für 10 min um 10 mm Hg ab, dann 10 min am Ausgangsniveau, dann über 40 min 10 mm Hg über Ausgangsniveau
69/51	Zunahme	über 13 min	Zunahme	1 min	unverändert
71/51	Zunahme	über 21 min	Zunahme	6—10 min	steigt kurz um 10 mm an, um dann wieder zum Ausgangsniveau zurückzukehren
10/52	Zunahme	5 min	unveränd.	∅	steigt 2 min p. I. um 40 mm Hg an, nach 7 min um weitere 20, die respir. Schwankungen werden sehr viel ausgeprägter
14/52	Zunahme	19 min	Zunahme	2 min	sinkt langsam um 20 mmHg ab
24/51	Zunahme	über 32 min	Zunahme	32 min	sinkt um 40 mm Hg ab, um nach 13 min wieder um 30 mm Hg anzusteigen

Zahl der Versuche: 18. Zunahme der Kranzgefäßdurchblutung in 15 Fällen = 83%.

wechselndem Verhalten des Blutdruckes. Bei den übrigen Versuchstieren blieb die Kranzgefäßdurchblutung unverändert. Ein Unterschied gegenüber der Wirkung der Oleanolsäure ließ sich außer der häufigeren Zunahme der Coronardurchblutung, die jedoch bei der kleinen Zahl der Versuchstiere kaum gewertet werden kann, nicht feststellen.

4. Die Wirkung des *Natriumsalzes der Oleanolsäure*, das sich in einer 1 %igen Lösung in 96 %igem Alkohol als gut und haltbar löslich erwies, ist in Tab. 1 dargestellt. Bei 15 von 18 Versuchstieren trat eine eindeutige Steigerung der Coronardurchblutung ein, deren Dauer zwischen 1 und 40 min lag. Am häufigsten lag die Steigerung der Coronardurchblutung zwischen 10 und 20 min. Bei einem Versuchstier konnte die Veränderung der Coronardurchblutung wegen einer Störung der Versuchsanordnung nicht gewertet werden, in 2 Fällen blieb sie unverändert. Die Durchblutungszunahme der Art. vertebralis trat mit etwa der gleichen Häufigkeit ein. Sie ist zeitlich von kürzerer Dauer (unter 10 min). Das Verhalten des Blutdruckes ist wechselnd (siehe Tab. 1). Abb. 2 gibt den kurvenmäßigen Verlauf der Wirkung von 2 cm^3 einer 1 %igen Lösung des Natriumsalzes der Oleanolsäure wieder. 20 sec nach Verabreichung der Lösung steigt die Kranzgefäßdurchblutung für die Dauer von mehr als 12 min erheblich an. Die Durchblutungszunahme der Art. vertebralis dauert ca. 1½ min. Die Durchblutungszunahme des rechten Kranzgefäßes ist sicher blutdruckunabhängig, nachdem der arterielle Druck nur für kurze Zeit eine Erhöhung von ca. 5 mm Hg aufweist.

Tabelle 2. *Natriumsalz der Ursolsäure. Wirkung von 1—2 cm^3 (je nach Größe des Versuchstieres) einer 1%igen alkoholischen Lösung.*

Prot. Nr.	Durchbl. d. Art. Coron. d.	Dauer der Wirkung	Durchbl. d. Art. Vertebr.	Dauer der Wirkung	Verhalten des Blutdruckes
65/51	unveränd.	∅	unveränd.	∅	sinkt um 10 mm Hg ab
66/51	Zunahme	über 23 min	Zunahme	über 23 min	unverändert
67/51	Zunahme	2 min	unveränd.	∅	steigt um 5 mm Hg an
68/51	Zunahme	über 22 min	Zunahme	1 min	sinkt um 10 mm Hg ab, kehrt nach 12 min wieder zum Ausgangsniveau zurück
69/51	Zunahme	über 23 min	Zunahme	1 min	unverändert
70/51					stirbt sofort im Anschluß an die Injektion
71/51	Zunahme	2 min	Zunahme	40 sec	sinkt um 40 mm Hg ab
10/52	unveränd.	∅	unveränd.	∅	unverändert
14/52	Zunahme	über 16 min	—	—	sinkt langsam um 20 mm Hg ab

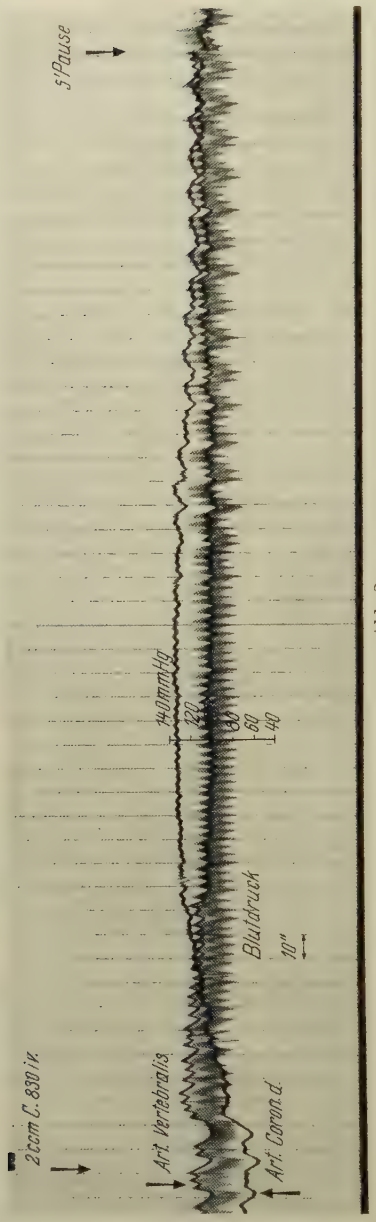


Abb. 2.

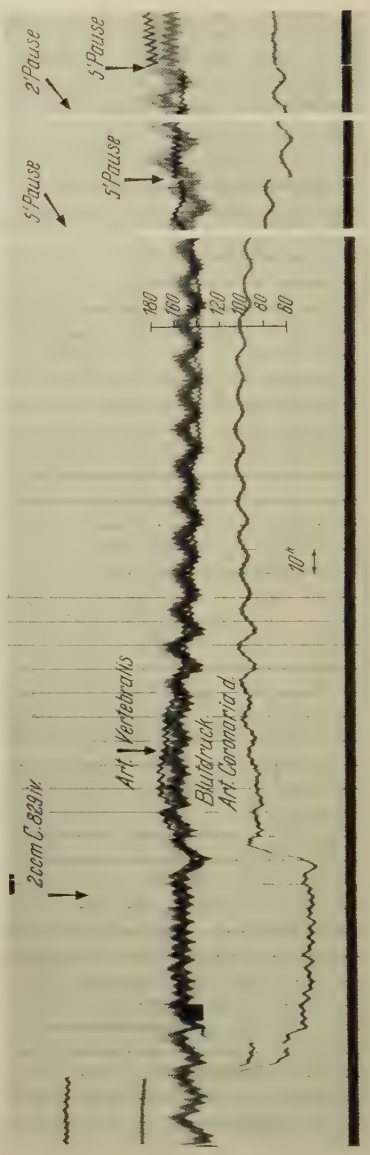


Abb. 3.

Abb. 2. Bei ↓ i.v. Injektion von 2 cm³ einer 1%igen Lösung des Natriumsalzes der Oleanolsäure in 96%igem Alkohol. Registriert von oben nach unten: Art. vertebralis, Blutdruck und Durchblutung der Art. coron. d. Papierablauf: 0,8 mm/sec. Hund in Chloralose-Narkose.

Abb. 3. Bei ↓ i.v. Injektion von 2 cm³ einer 1%igen Lösung des Natriumsalzes der Ursolsäure, gelöst in 96%igem Alkohol. Registriert von oben nach unten: Art. vert. Blutdruck und Durchblutung der Art. coron. d. Papierablauf: 0,8 mm/sec. Hund in Chloralose-Narkose.

Auch bei den übrigen Versuchen war eine Abhängigkeit der Kranzgefäßdurchblutung vom arteriellen Druck und bei einzelnen Kontrollversuchen auch vom Minutenvolumen nicht festzustellen.

5. Die Wirkung des *Natriumsalzes der Ursolsäure* in einer ebenfalls 1%igen Lösung ist in Tab. 2 dargestellt. Bei 6 von 9 Versuchen steigt die Coronardurchblutung und die Durchblutung der Art. vertebralis deutlich an. Bei 2 Versuchstieren blieb die Coronardurchblutung unverändert. 1 Versuchstier starb unmittelbar nach der Injektion ohne irgendwelche besondere Kreislaufreaktionen zu zeigen. Die Dauer der Coronarwirkung liegt zwischen 2 und 23 min. Da die Registrierung aber zum Teil noch vor Abklingen der Wirkung abgebrochen wurde, muß auch mit einer längeren Wirkungsdauer gerechnet werden. Das Verhalten des Blutdruckes läßt auch hier keine eindeutige Tendenz erkennen. Neben unverändertem Verhalten können Senkungen oder Steigerungen um 10—15 mm Hg eintreten. Die Zeitdauer der Blutdruckveränderungen beschränkt sich auf maximal 2—3 min. Abb. 3 gibt die Wirkung von 2 cm^3 einer 1%igen Lösung des Natriumsalzes der Ursolsäure wieder. Nach der Injektion folgt unmittelbar eine anhaltende Steigerung der Durchblutung des Herzkranzgefäßes und eine kurzdauernde Steigerung der Durchblutung der Art. vertebralis, die dann nach kurzem Absinken nach etwa 10 min wieder zu steigen beginnt. Die Durchblutungssteigerung beider Gefäße ist druckunabhängig.

Besprechung der Ergebnisse.

Die zur Klärung der Gefäßwirkung von Crataeguswirkstoffen durchgeführten Untersuchungen zeigen, daß sowohl die rohe ungereinigte „Crataegussäure", die erstmals von Baechler dargestellt wurde, und auch das gereinigte Gemisch von Triterpensäuren, als das sich die „Crataegussäure" bei näherer Untersuchung durch Schindler erwies, die Coronargefäße am vollinnervierten Tier bei i. v. Gaben von 1—2 cm^3 einer 1%igen alkoholischen Lösung deutlich und langanhaltend erweitern. Die Erweiterung der Kranzgefäßdurchblutung erwies sich als Blutdruck- und Minutenvolumen-unabhängig und dürfte somit auf einer Widerstandssenkung im coronaren Stromgebiet beruhen. Nachdem andere Wirkstoffgruppen im Weißdorn die Glykoside und auch die Flavone keine so eindeutige und mit solcher Häufigkeit reproduzierbare Gefäßwirkung am Warmblüter erzeugen, muß angenommen werden, daß die Coronarwirkung von Crataegus, die erstmals 1943 von G. Schimert an Gesamtkonzentraten nachgewiesen wurde, an die Gruppe der Triterpensäuren bzw. ihre Derivate gebunden ist. Die isolierten und gereinigten Triterpensäuren, von denen die Oleanolsäure und die Ursolsäure sowohl rein wie als Natriumsalz am Coronarhund geprüft wurden, ergeben beide in einem hohen Prozentsatz eine langanhaltende Durch-

blutungssteigerung der Herzkranzgefäße, eine kurzdauernde Steigerung der Durchblutung der Cerebralgefäße und vereinzelt kurzdauernde Erweiterungen an peripheren Gefäßen. Toxische Wirkungen auf das Herz konnten bei den angewandten Dosen von 1—2 cm^3 von 0,5—1%igen alkoholischen Lösungen nicht beobachtet werden. Der Tod eines Versuchstieres kurz nach der i. v. Injektion dürfte bei dem schweren Eingriff, der zur Registrierung der Coronardurchblutung notwendig ist, andere Gründe haben. Wir sehen bei dieser Methodik häufig während und im Anschluß an die Präparation Sekundenherztod eintreten. Erst bei 5—10facher Dosierung treten stärkere Veränderungen der Druckamplitude, des Blutdruckes sowie Rhythmusstörungen ein, wie sie früher bei Vollauszügen ebenfalls beobachtet werden konnten. Vor einer Anwendung beim Menschen müssen noch eingehende Toxizitätsprüfungen vorgenommen werden.

Das Auffallende an der Coronarwirkung der Triterpenderivate aus Crataegus ist ihre lange Dauer. Sie überschreitet zeitlich die Wirkung der meisten bisher bekannten coronarwirksamen Substanzen. Bei der Anwendung von Crataegussäure (Lacton) bzw. der Triterpensäuregemische konnten Wirkungen bis zu 1 Std Dauer beobachtet werden.

Die Frage, ob bei der von klinischer Seite wiederholt angegebenen Wirksamkeit von Crataegus bei Coronarinsuffizienz und anderen Erkrankungen des Altersherzens diese Wirkung der Triterpensäuren eine Rolle spielt, ist auf Grund unserer Versuchsergebnisse noch nicht zu beantworten. Wir wissen zur Zeit noch nicht, wie weit diese schwer löslichen Wirkstoffe resorbiert werden und ob sie bei der bisher geübten peroralen Dosierung eine solche Wirkung auf die Kranzgefäße haben können. Die neueren Untersuchungen von Harth[29] scheinen eine günstige Wirkung von Crataegusvollextrakten auf die Ekg-Veränderungen im O_2-Mangeltest zu beweisen. Das Ergebnis dieser Versuche könnte den Anlaß geben, unsere Ergebnisse in diesem Sinne zu deuten, es muß aber festgestellt werden, daß die Wirkung der Triterpensäuren nicht identisch mit der Wirkung von Crateagusvollextrakten ist, zumal keinerlei tonisierende Wirkungen auf das Herz nachgewiesen werden konnten. So muß man sagen, daß die therapeutische Wirksamkeit der Triterpenderivate aus Crataegus noch nicht sicher erwiesen ist. Dieser Beweis muß erst durch weitere experimentelle und klinische Untersuchungen geführt werden.

Zusammenfassung.

1. Es wurde an Hunden mit Hilfe der Reinschen Stromuhr die Wirkung des gefäßwirksamen Anteils von Crataegus oxyacantha geprüft. Die coronargefäß-erweiternde Wirkung, die bei Vollextrakten von Crataegus schon früher beobachtet wurde, ist an die sogenannte „Crataegus-

säure" = ein Gemisch aus den drei Triterpensäuren, Oleanolsäure, Ursolsäure und Crataegolsäure gebunden.

2. Bei der i. v. Verabreichung führt sowohl die ungereinigte „Crataegussäure" (Crataegus lacton), wie auch das gereinigte Triterpensäuregemisch zu einer langanhaltenden blutdruck- und minutenvolumenunabhängigen Steigerung der Herzkranzgefäßdurchblutung und einer kürzer dauernden Steigerung der Durchblutung der Cerebralgefäße.

3. Die isolierten reinen Triterpensäuren, die Oleanolsäure und die Ursolsäure bzw. ihre Natriumsalze, die wegen der besseren Löslichkeit verabreicht wurden, führen ebenfalls zu einer langanhaltenden Steigerung der Kranzgefäßdurchblutung und zu einem etwas kürzeren Anstieg der Gehirndurchblutung.

4. Diese Wirkungen der Triterpenderivate auf die Herzkranzgefäße sind nur als eine Teilwirkung von Crataegus zu betrachten. Ihre therapeutische Wirksamkeit ist, solange die Resorptionsverhältnisse nicht bekannt sind, noch nicht sicher erwiesen.

5. Die Triterpensäuren bzw. ihre Derivate zeigen keine Wirkung auf die Herzdynamik und somit auch keine tonisierende Wirkung auf das Herz.

Literatur.

[1] Assmann, E.: Dtsch. Z. f. Hom. **248**, 278, 301 (1930). — Hippokrates **10**, 282 (1939). — [2] Huchard: I. d. Practiciens 1903. — [3] Ritter, H.: Die Behandlung der Herz- und Gefäßkrankheiten. Berlin u. Saulgau: K. F. Haug 1947. — [4] Fasshauer, W.: Dtsch. med. Wschr. **76**, 211 (1951). — [5] Schoeler: Allg. Hom. Zt. **195**, 117 (1950). — [6] Schimert, G.: Z. exper. Med. **113**, 113 (1943). — Neue med. Welt **14** (1950). — [7] Haferkamp, H.: Hippokrates **21**, 1 (1950). — [8] Dau, M.: Monographie alter Heilpflanzen. (Zusammenfassende Darstellung.) Hamburg: Hansescher Gildenverlag 1941. — [9] Baechler, L.: Diss. Basel 1927. — [10] Seel, H.: Ther. Gegenw. **7**, 213 (1949). — [11] Becker: Diss. Hamburg 1934. — [12] Dieterle u. Dorner: Arch. Pharmaz. **275**, 428 (1937). — [13] Neugebauer, H.: Pharmazie **4**, 29 u. 284 (1949). — [14] Perkin and Hummel: J. chem. Soc. Lond. **69**, 1570 (1896). — [15] Akumatsu, zit. nach M. Dau. — [16] Jenney u. Czimmer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **183**, 571 (1936). — [17] Ullsperger, R.: Pharmazie **6**, 141 (1951). — [18] Schindler, H.: Arch. Pharmaz. **284**, 132 (1951). — [19] Zimmermann, I.: Helvet. chim. Acta **27**, 322 (1944). — [20] Bersin, T., u. A. Müller: Helvet. chim. Acta **34**, 1868 (1951). — [21] Bauereis (Diskussionsbemerkung zu Fugmann): Angew. Chemie **63**, 487 (1951). — [22] Tschesche u. Fugmann: Chem. Ber. **84**, 810 (1951). — [23] Fugmann: Angew. Chemie **63**, 487 (1951). — [24] Jeger: Über die Konstitution der Triterpene. In: Zechmeister: Fortschr. d. chem. org. Naturstoffe **7**, 1 (1950). — [25] Winterstein u. Stein: Z. physiol. Chem. **202**, 217 (1931). — [26] Graham: Quart. J. Pharmacol. **13**, 49 (1940). — [27] Wetterer (noch unveröffentl. Ergebnisse). — [28] Rein, H.: Biologische Arbeitsmethoden. Abderhalden. — [29] Harth, V.: Therapiewoche **10**, 560 (1950/51).

Prof. Dr. Gustav Schimert, München, II. Medizinische Universitäts-Klinik, Ziemßenstraße 1.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 348—350 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der Firma C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim am Rhein.

Fortlaufende Druckregistrierung am uneröffneten Gefäß mittels elektrischer Dehnungsmeßstreifen.

Von

HELMUT WICK.

Unter technischer Mitarbeit von

WERNER LEONHARDT.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. August 1952.)

Seit kurzem sind Dehnungsmeßdrähte, in handlicher Form auf Papierstreifen aufgeklebt, als Dehnungsmeßstreifen (DMS) erhältlich („strain gauges")*; mit ihnen läßt sich die von uns früher angegebene Registrier-

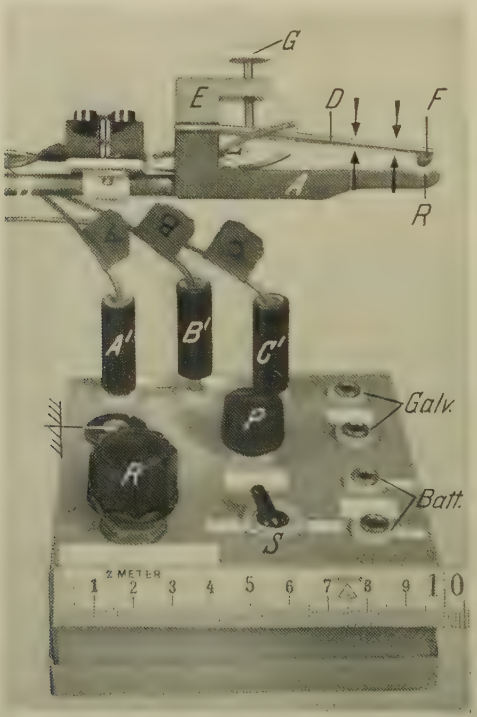


Abb. 1. DMS-Druckabnehmer (oben) und Schaltkästchen (unten).

* Hersteller: Elektro Spezial G. m. b. H., Hamburg, Mönckebergstr. 7 (Philips).

methode[1] wesentlich verbessern. Vorzüge der neuen Bauweise sind vereinfachte Handhabung, thermische Unempfindlichkeit, sehr gute Null-Konstanz und größere Meßempfindlichkeit. Der kleine Apparat, der sich überall mit Institutsmitteln leicht herstellen läßt, besteht aus folgenden Teilen (Abb. 1):

1. der Grundplatte aus Kunststoff A, die am Ende eine Rinne R trägt, in die das isolierte Gefäß eingelegt wird. Mit der Stange B kann der Druckmesser mit Klemmkupplungen am Operationstisch befestigt werden.

2. dem Druckfühler D aus Federmessing (Breite ca. 7 mm). Ober- und Unterseite (zwischen den Pfeilen) sind mit je einem Dehnungsmeß-

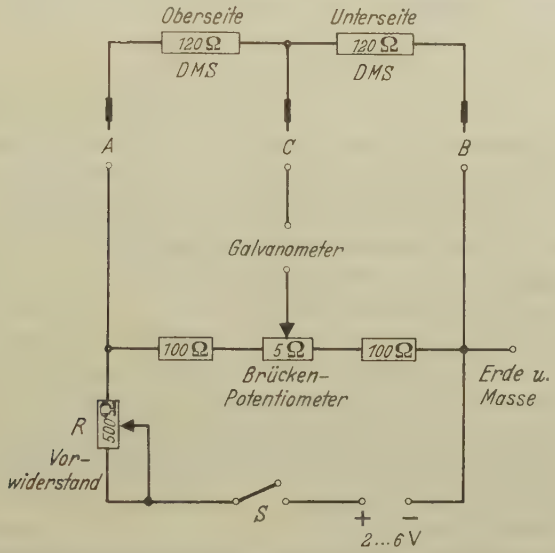


Abb. 2. Schaltung des DMS-Druckfühlers (oberer Zweig der WHEATSTONEschen Brücke) und des Schaltkastens (unterer Zweig der Brücke).

streifen (GM 4473, Abmessungen 7 × 27 mm) beklebt, die zum Schutz gegen Feuchtigkeit mehrmals mit Zaponlack überstrichen werden. Ein Ende des Druckfühlers ist mit kräftigen Schrauben fest zwischen der Grundplatte A und dem Winkelstück aus Messing E eingespannt, das andere Ende trägt den kleinen quaderförmigen Kunststoffstempel F.

3. der Messingschraube mit Feingewinde G. Durch Anziehen dieser Schraube wird der Druckfühler D zwischen Einspannung und Schraube so verbogen, daß der Stempel F in das Gefäß eingedrückt und sein Lumen etwa zur Hälfte verkleinert, die Wandspannung also praktisch aufgehoben ist.

Die geringe Verbiegung des Druckfühlers (zwischen Schraube und Druckstempel) durch den Gefäßinnendruck wird mit einer WHEATSTONEschen Brücke gemessen (Schaltung Abb. 2). Wenn die Spannung der

Stromquelle 6 Volt nicht überschreitet, werden die DMS auch bei ausreguliertem Vorwiderstand nicht unzulässig belastet. Die Anschlußbuchsen A′, B′, C′, Schalter, Widerstände, das Abgleichpotentiometer und die Anschlüsse für Galvanometer und Batterie sind in einem kleinen Aluminiumgehäuse untergebracht (Abb. 1). Zur Registrierung eignet sich jedes schnellschwingende spannungsempfindliche Galvanometer mit entsprechend niedrigem aperiodischen Grenzwiderstand (Widerstand des Geberkreises rund 110 Ω).

Die Druckeichkurve erhält man, indem man nach dem Tode des Versuchstieres das Blutgefäß auf einer Seite des DMS-Druckschreibers abklemmt und auf der anderen Seite ein Hg-Manometer anschließt und in üblicher Weise die Eichdrucke erzeugt.

Wie man bei einem Versuch feststellen kann, läßt sich die Wandspannung des Gefäßes nicht vollständig aufheben; dies ist leicht daran zu erkennen, daß bei weiterem Eindrücken des Meßstempels in das Gefäß der Galvanometerausschlag noch etwas zunimmt. Bei dem beschriebenen Druckmeßverfahren wirkt die Gefäßwand also noch etwas als Manometermembran mit, so daß mit dem Druckfühler *allein* keine absoluten Eichwerte, die für alle Gefäße gültig wären, angegeben werden können. Durch die Schlußeichung an dem im Versuch benutzten Gefäß werden jedoch die effektiven Druckwerte richtig ermittelt.

Zum Ingangsetzen der DMS-Blutdruckschreibung geht man zweckmäßig in folgenden Schritten vor:

1. Lichtstrich des *stromlosen* Galvanometers auf *die* Stelle des Kymographions richten, an der die Null-Linie des Blutdrucks liegen soll.

2. Strom bei ausgeregeltem Vorwiderstand einschalten und einige Minuten warten. Mit dem 5-Ω-Brückenpotentiometer die Lichtmarke neu auf die Nullstellung einregeln, wobei der Druckfühler noch nicht an das Gefäß angedrückt sein darf. Beim Druck Null ist der Galvanometerzweig also stromlos.

3. Mit Schraube *G* den Druckfühler an das Gefäß andrücken, bis das Gefäß etwa zur Hälfte eingedrückt ist. Gefäß feucht halten und Schraube *G* für die Versuchsdauer bis zur Eichung nicht mehr verstellen. Wenn der Druckausschlag in falsche Richtung geht, wird das Galvanometer umgepolt.

4. Durch Einschalten des Vorwiderstandes die Empfindlichkeit auf den gewünschten Betrag reduzieren. Die Lage der Null-Linie wird hierdurch nicht mehr verändert.

Bei Verwendung von weichem Federmaterial kann der Druck in uneröffneten Venen in gleicher Weise registriert werden.

Literatur.

[1] Wick, H., u. W. Leonhardt: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 454 (1950).

Dr. Helmut Wick,
Pharmakologisches Laboratorium der Firma C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim/Rh.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 351—359 (1953).

Aus der I. Medizinischen Klinik der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Prof. Dr. med. E. Boden).

Über die Wirkung von Peripherin „Homburg"* auf den großen und kleinen Kreislauf.

(Experimentelle Befunde beim Menschen mit der Kathedermethode.)

Von
O. Bayer, S. Effert und R. Schunk.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. August 1952.)

Zur Analyse von Veränderungen der Kreislaufgrößen unter Einwirkung eines Pharmakon ist eine große Anzahl von Verfahren angegeben worden. Die große Gruppe tierexperimenteller Methoden hat den Vorteil direkter Meßmöglichkeit bei blutigen Eingriffen. Die gewonnenen Ergebnisse müssen jedoch kritisch geprüft werden, wenn man sie auf den Menschen übertragen will, weil der Einfluß zahlreicher Faktoren zu Mißdeutungen und Fehlschlüssen Anlaß geben kann. Die Unmöglichkeit, solche direkten Messungen beim Menschen durchzuführen, hat zur Ausarbeitung physikalischer Meßmethoden geführt. Als Vorteil ist dabei anzusehen, daß kein blutiger Eingriff erforderlich ist und die Möglichkeit von beliebig vielen Einzelbestimmungen über einen längeren Zeitabschnitt besteht. Diese Verfahren haben sich zur Feststellung von Richtungsänderungen der Kreislaufgrößen seit langem bewährt. Die Richtigkeit der Absolutwerte ist jedoch stark umstritten (Meier, Tripod und Wirz[11a], Sidek, Wenger u. Wick[15]).

Mit dem Katheterismus des rechten Herzens ist in letzter Zeit der Klinik eine Methode in die Hand gegeben, die in ihrer Genauigkeit dem Tierexperiment nahekommt, ohne dessen Nachteile zu haben. Da hiermit die Entnahme venösen Mischblutes aus dem rechten Herzen durchführbar wird, kann das Herzminutenvolumen nach dem direkten Fickschen Prinzip bestimmt werden. Ein weiterer Vorteil ist die Möglichkeit einer direkten Registrierung der Drucke im rechten Herzen und der arteriellen Lungenstrombahn.

Diesen Vorteilen steht der notwendige und nicht ganz indifferente Eingriff nachteilig gegenüber. Außerdem gestatten die verhältnismäßig langwierigen Methoden der Blut- und Atemgasanalyse nicht beliebig

* Kombinationspräparat: 0,2 Theophyllin + 0,0375 Ephedrin + 0,15 Diäthanolamin.

viele Einzelmessungen. Wir haben die Kathetermethode zur Untersuchung der Wirkung kreislaufaktiver Substanzen beim Menschen herangezogen.

Nach den experimentellen Untersuchungsergebnissen von Wezler und Thauer liegen in einer Kombination von Ephedrin 1-Phenyl-2-methylaminopropanol und Theophyllin 1,3-Dimethylxanthein im Vergleich zu reinen Adrenalinderivaten besonders günstige Bedingungen für die Beeinflussung kollapsartiger Zustände vor. Wir haben daher in einer Versuchsserie die Herz- und Kreislaufwirkung des von der Firma Homburg in den Handel gebrachten „Peripherin" bei Herz- und Kreislaufgesunden geprüft. Dieses Präparat enthält nach Wezler und Thauer die beiden obengenannten Pharmaka in einem optimalen Mischungsverhältnis.

Nach Angaben der Firma sind in 1 cm^3 Ampullenlösung 0,2 Theophyllin, 0,0375 Ephedrin und 0,15 Diäthanolamin enthalten. Auf die chemischen Bindungen der Einzelsubstanzen (Wezler u. Thauer[18], Kohlstaedt u. Lührmann[10]) soll hier nicht mehr eingegangen werden. Bei der verständlichen Beschränkung der Zahl unserer Versuche haben wir es nicht noch einmal unternommen, die Kreislaufwirkung der Einzelbestandteile zu prüfen. Ein kurzer Hinweis auf die wichtigsten, experimentell gefundenen Wirkungen dieser Substanzen mag hier genügen.

Ephedrin zeichnet sich pharmakologisch durch seine zentral und peripher bedingte Vasokonstriktion mit langer Dauer aus. Die Folge ist eine Erhöhung des systol. und diastol. Blutdrucks und des peripheren Gefäßwiderstandes, wobei es nicht selten zu einer Verringerung des Herzminutenvolumens kommt (Wezler u. Thauer[18], Knebel[9], Gatzek u. Mechelke[3]). Andererseits muß die positiv-inotrope Wirkung auf den Herzmuskel zu einer erhöhten Auswurfleistung führen. Bei Überwiegen der direkten Herz- über die Gefäßwirkung (möglicherweise abhängig von individuellen Einflüssen oder Applikationsart) wird auch ein vergrößertes Minutenvolumen beobachtet (Starr u. Mitarb.[17]). Im Gegensatz zu den anderen Gefäßen werden die Coronararterien von Ephedrin in therapeutischen Dosen meist erweitert. Eine Beeinflussung der Herzfrequenz ist durch 2 Faktoren möglich: Der direkte Einfluß auf das Herz führt zu Tachycardie, während die Blutdruckerhöhung reflektorisch über die Pressoreceptoren eine bradycarde Wirkung hat (Sollmann[16]). So kann man auch hier, je nach Ausgangslage, das eine oder das andere beobachten.

Noch komplizierter und unübersichtlicher sind die Angriffspunkte des Theophyllins. Im Vordergrund steht die Herzwirkung, wobei dem Theophyllin von allen Purinkörpern die stärkste positive inotrope und coronarerweiternde Wirkung zukommt. Das Minutenvolumen wird deshalb stets gesteigert. Der Einfluß der Purine auf die Gefäße ist auf Grund von zentral und peripherantagonistischer Wirkung sehr unterschiedlich. Zu einer Blutdruckerhöhung kann der Reiz auf das Kreislaufzentrum und das Myokard führen, während die Reizung des Vaguszentrums und die an der Gefäßmuskulatur angreifende dilatierende Wirkung ein Absinken des Blutdrucks bewirken. Es finden sich deshalb in der Literatur teilweise gegensätzliche Versuchsergebnisse (Sollmann[16]). Da Theophyllin von den Purinkörpern auch die stärkste periphere Gefäßwirkung hat, wird in Verbindung mit der Minutenvolumensteigerung vor allem eine verstärkte Organdurchblutung beobachtet. Der periphere Widerstand ist erniedrigt, der mittlere Blutdruck kann gleichbleiben, erhöht oder erniedrigt sein, während die Amplitude meist zunimmt (Sollmann[16]). Das klinisch häufig beobachtete Absinken des Blutdrucks, besonders bei i. v. In-

jektion, schränkt den Indikationsbereich des Theophyllins ein (Wezler u. Thauer[17] Gatzek u. Mechelke[3], Wezler[19]).

Das Diäthanolamin als dritter Bestandteil der Kombination zeigt demgegenüber außer einer leichten Coronarerweiterung (Osterwald u. Meurer[13]) keine direkte Herz- und Kreislaufwirkung und dient hauptsächlich als Lösungsvermittler.

Aus dieser pharmakologischen Betrachtung geht hervor, daß Ephedrin und Theophyllin synergistische und antagonistische Angriffspunkte am cardiovasculären System besitzen. Die Ergebnisse von Wezler u. Thauer[18] im Tierexperiment und bei physikalischer Kreislaufanalyse am Menschen lassen darauf schließen, daß in der vorliegenden Kombination beider Substanzen die unerwünschten Wirkungen abgeschwächt oder aufgehoben, die therapeutisch erwünschten dagegen potenziert werden. Bei der komplexen Natur des Kreislaufgeschehens, die schon häufig die Ursache von Fehlschlüssen war, erschien uns daher eine Kreislaufanalyse unter der Einwirkung von Peripherin mit grundsätzlich anderer Methodik besonders wertvoll.

Methodik.

Die Untersuchungen wurden um die gleiche Tageszeit (12 Uhr) zwischen August 1951 und Januar 1952 an 10 Herzgesunden durchgeführt, die sich freiwillig zur Verfügung gestellt hatten.

Die Versuchsperson wird auf dem Röntgentisch gelagert und die V. mediana cubiti des linken Armes zur Einführung des Katheters in Lokalanästhesie freigelegt. Unter Röntgenkontrolle wird nun der Herzkatheter in der üblichen Form in das rechte Herz eingeführt und möglichst bis in das Gebiet der „Pulmonalcapillaren" vorgeschoben; darunter versteht man die Stelle im Ast einer Pulmonalarterie, wo deren Lumen vollständig von der Katheterspitze verschlossen wird. Nach Entfernung des Mandrins aus dem Katheter wird der Druck in diesem Gefäßabschnitt mit einem elektrischen Manometer registriert. Wir verwenden das von Neuhaus[12] angegebene Gerät, das auf dem Prinzip des Trägerfrequenzverstärkers basiert.

Unter Röntgenkontrolle wird im weiteren Verlauf des Versuches der Katheter bis in den Hauptstamm der Pulmonalarterie bei fortlaufender Druckregistrierung zurückgezogen und dort zunächst belassen. Zur Entnahme arteriellen Blutes wird die A. femoralis in der Leistenbeuge punktiert und die Punktionsnadel mit einem feinen Mandrin bis zur ersten Minutenvolumenbestimmung wieder verschlossen.

Nach einer Pause von etwa 5—10 min, die wir zur Erreichung von Ruhebedingungen bei der Versuchsperson für ausreichend hielten, wird das Herzminutenvolumen in folgender Weise bestimmt: Die Versuchsperson atmet über ein in den Mund genommenes Ventilstück, das die Ausatmungsluft über einen kurzen Verbindungsschlauch in einen Douglassack entweichen läßt. Wir verwenden hierzu 100 l fassende Douglassäcke, auf deren Atmungsschlauch ein Gashahn aufgesetzt ist, der es gestattet, die Ausatmungsluft eines bestimmten Zeitraumes (5 min) genau begrenzt aufzufangen. 2 min 30 sec nach Beginn des Auffangens der Ausatmungsluft werden gleichzeitig aus der A. pulmonalis durch den Herzkatheter und aus der A. femoralis Blutproben entnommen und in der üblichen Weise in Paraffin- und Natriumoxalat enthaltende Glasröhrchen gespritzt. Unmittelbar danach, also noch während der Atmung in den Douglassack, wird der Blutdruck am rechten Arm gemessen und die Kapseln zur Registrierung der Pulskurven über der A. carotis und der A. femoralis aufgesetzt. Damit erfolgt die Bestimmung aller Kreislaufgrößen praktisch gleichzeitig.

Unmittelbar anschließend wird durch den Katheter innerhalb ½ min 1 cm^3 Peripherin appliziert. 1 min nach Beendigung der Injektion wird in der gleichen Weise, wie oben beschrieben, die Ausatmungsluft über 5 min gesammelt; Blutproben werden entnommen und die Drucke im rechten Herzen und in der Lungenarterie registriert. Die Druckaufzeichnungen wurden in einigen Fällen bis zur Annäherung an den Ruhewert durchgeführt. Bei 2 Versuchspersonen führten wir nach Ablauf ½ Std noch eine dritte Minutenvolumenbestimmung durch, um eventuell einige Aussagen über die Wirkungsdauer des Peripherins machen zu können. Zuletzt wird der Herzkatheter unter fortlaufender Druckregistrierung und Röntgenkontrolle zurückgezogen. Im Anschluß an den Herzkatheterismus werden aus den Douglassäcken Gasproben entnommen und mit der Haldaneschen Apparatur auf O_2- und CO_2-Gehalt untersucht. Durch nachfolgendes Ausdrücken der Säcke durch eine Gasuhr erhält man das Atemminutenvolumen, das, multipliziert mit dem analytisch ermittelten prozentualen O_2-Verbrauch, die verbrauchten cm^3 O_2 in der Minute berechnen läßt. Die entnommenen Blutproben werden nach der Methode von van Slyke auf O_2- und CO_2-Gehalt untersucht und daraus die arterio-venöse Differenz des Sauerstoffgehaltes in Vol% für jede Einzelbestimmung ermittelt. Das Herzminutenvolumen ergibt sich dann nach dem Fickschen Prinzip aus der Formel

$$HMV \text{ (in l/min)} = \frac{O_2\text{-Verbrauch in cm}^3 \text{ min}}{\text{A.V.-Differenz in Vol.\%} \cdot 10}$$

Die Herzfrequenz während des Versuches wird aus dem synchron mit den Druckkurven registrierten Ekg ermittelt. Die anderen Kreislaufgrößen berechnen wir nach den folgenden Formeln (Gorlin u. Gorlin[4] und Gorlin u. Mitarb.[5]):

$$\text{Peripherer Gesamtwiderstand (in dyn sec cm}^{-5}) = \frac{\text{mittl. Brachialart. Druck (mm Hg)} \cdot 1332}{\text{Herzauswurf in cm}^3\text{/sec}}$$

$$\text{Gesamtlungenwiderstand (in dyn sec cm}^{-5}) = \frac{\text{mittl. Pulm. Art. Druck (mm Hg)} \cdot 1332}{\text{Herzauswurf in cm}^3\text{/sec}}$$

$$\text{Pulmonalarteriolenwiderstand (in dyn sec cm}^{-5}) = \frac{\text{mittl. Pulm. Art. Druck} - \text{mittl. Pulm. Capill. Druck} \cdot 1332}{\text{Herzauswurf in cm}^3\text{/sec}}$$

$$\text{Leistung des li. Ventrikels (in mkg/min)} = \frac{(HMV \cdot 1{,}055) \cdot (\text{mittl. Brachialart. Druck} \quad 5) \cdot 13{,}6}{1000}$$

Der mittlere Brachialarteriendruck wird nach der Formel:

$$P_{\text{diastol.}} + (0{,}43 \cdot \Delta p)$$

errechnet.

Unter dem „Herzauswurf in cm^3/sec" versteht man im angelsächsischen Schrifttum die Blutmenge, die in 1 sec während der Klappenöffnungszeit die Herzklappen passiert. Dazu benötigt man bei Berechnung die Zeit in sec/min, die auf den systolischen Auswurf entfällt. Diese kann genau nur von einer Druckkurve des li. Ventrikels abgelesen werden. Wir haben die Werte für die Systolendauer aus unseren gleichzeitig registrierten Pulskurven der A. carotis entnommen und glauben, daß diese höchstens geringfügig von den tatsächlichen Gegebenheiten abweichen. Es ist also:

Systol. Auswurfzeit = Systolendauer (in Sekunden) · Herzfrequenz/min (in sec/min)

$$\text{Herzauswurf (in cm}^3\text{/sec)} = \frac{\text{H. M. V. (in cm}^3\text{/min)}}{\text{systol. Auswurfzeit (in sec/min)}}.$$

Die Pulsgeschwindigkeit wird in der üblichen Weise aus den Pulskurven der A. carotis und A. femoralis ermittelt. Außerdem wird der elastische Gefäßwiderstand nach der Formel von Brömser u. Ranke[1] berechnet.

Ergebnisse.

Die in der Mehrzahl der Fälle von uns gefundene Kreislaufwirkung des Peripherins in der angewandten Dosis von 1 cm³ intracardial sei an Hand einer graphischen Darstellung demonstriert (Abb. 1). Es handelt sich um den Versuchsausfall bei einem 41jährigen herzgesunden Mann. Die Ausgangswerte der einzelnen Kreislaufgrößen liegen durchweg im Bereich der Norm. 3 min 30 sec p. i. ist das Minutenvolumen um 5,1 l, das Schlagvolumen um 78 cm³ angestiegen. Die Herzfrequenz bleibt praktisch unverändert. Der systolische Blutdruck steigt um 50 mm Hg, der diastolische um 15 mm Hg, der mittlere arterielle Druck um 30 mm Hg an. Die Amplitudenzunahme beträgt 35 mm Hg. Der periphere Gesamtwiderstand sinkt um 101 dyn · sec · cm^{-5} ab. Die Pulswellengeschwindigkeit nimmt um 1,53 m/sec zu, der elastische Gefäßwiderstand um 195 dyn · cm^{-5}. Die Herzleistung zeigt einen Anstieg von 9,9 auf 21,8 mkg/min.

Auch im kleinen Kreislauf werden eindeutige Veränderungen der Druckverhältnisse festgestellt. Der Pulmonalcapillardruck steigt systolisch und diastolisch um 8 mm Hg an. In der A. pulmonalis wird ein systolischer Druckzuwachs von 15 mm Hg, ein diastolischer Abfall von 3 mm Hg gemessen. Ebenso

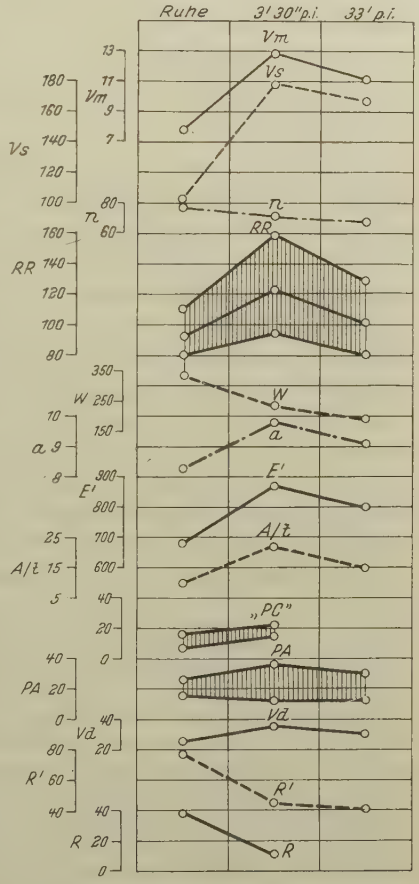


Abb. 1. Verhalten der Kreislaufgrößen 3 min 30 sec und 33 min nach Injektion von 1 cm³ Peripherin intrakardial. 41jähriger herzgesunder Mann.

Vm Minutenvolumen in l. *Vs* Schlagvolumen in cm³. *n* Herzfrequenz pro Minute. *RR* arterieller Blutdruck in mmHg. *W* Peripherer Gesamtwiderstand in dyn · sec · cm^{-5}. *a* Pulswellengeschwindigkeit in m/sec. *E'* Elastischer Gefäßwiderstand in dyn · cm^{-5} (Brömser und Ranke). *A/t* Herzleistung in mkg/min. „*PC*" sog. Pulmonalcapillardruck in mm Hg. *PA* Druck in der A. pulmonalis in mm Hg. *Vd* systolischer Druck im rechten Ventrikel. *R'* Gesamt-Lungenwiderstand in dyn · sec · cm^{-5}. *R* Pulmonaler Arteriolenwiderstand in dyn · sec · cm^{-5}.

steigt der systolische Druck im rechten Ventrikel um 15 mm Hg an. Der Gesamtlungenwiderstand verringert sich um etwa die Hälfte von 77 auf 36 dyn · sec · cm^{-5}, der Pulmonal-arteriolenwiderstand von 38 auf 11 dyn · sec · cm^{-5}.

33 min p. i. bewegen sich das Schlag- und Minutenvolumen der arterielle Blutdruck, der Pulmonalarteriendruck, der Druck im rechten Ventrikel und die Herzleistung wieder in Richtung der Ausgangsgrößen. Diese werden aber noch nicht erreicht. Der periphere Gesamtwiderstand ist zu diesem Zeitpunkt weiter abgefallen. Der Gesamtlungenwiderstand bleibt erniedrigt.

Die Umstellung des Kreislaufs nach Peripherin verhielt sich in den übrigen untersuchten Fällen prinzipiell wie in dem als Modell dargestellten Fall der Abb. 1.

Die Minutenvolumina stiegen im Mittel um 88%, die Schlagvolumina um 84%. Die Herzfrequenz wurde geringfügig beschleunigt oder blieb unbeeinflußt. Die Zunahme des arteriellen Blutdrucks betrug systolisch im Mittel + 39 mm Hg, diastolisch + 10 mm Hg, die des mittleren arteriellen Drucks + 22 mm Hg. Die Blutdruckamplitude nahm um 29 mm Hg zu. Der periphere Widerstand sank um 168 dyn · sec · cm^{-5} im Mittel. Die Pulswellengeschwindigkeit stieg um 0,69 m/sec, der elastische Widerstand um + 188 · dyn · cm^{-5}. Die Zunahme der Leistung des linken Ventrikels betrug + 141%. Der Druck im rechten Ventrikel stieg systolisch um 12 mm Hg im Mittel an. Für den Pulmonalcapillardruck und den Druck in der A. pulmonalis können aus technischen Gründen keine Mittelwerte angegeben werden, da es nur in einem Teil der Fälle gelang, den Katheter in die A. pulmonalis vorzuführen. In 2 Fällen konnten lediglich die Vorhofsdrucke registriert werden.

Tabelle 1. *Maximale und minimale prozentuale bzw. absolute Änderung der Kreislaufgrößen nach Injektion von 1 cm^3 Peripherin intrakardial bei 10 Herz- und Kreislaufgesunden.*

Vm = Minutenvolumen, *Vs* = Schlagvolumen, *n* = Herzfrequenz, *RR* = arterieller Blutdruck, *Pm* = arterieller Mitteldruck, *⊿P* = Blutdruckamplitude, *W* = peripherer Gesamtwiderstand, *a* = Pulswellengeschwindigkeit, *E′* = elastischen Gefäßwiderstand, *A/t* = Leistung des li. Ventrikels. *V. d.* = Druck im re. Ventrikel.

	Vm %	Vs %	n p. min	RR mm Hg systol. + diastol.	Pm mm Hg	⊿ p. mm Hg	W dyn sec cm^5	a m/sec	E′ dyn cm^5	A/t %	V. d. mm Hg
max.	+144	+210	+58	+60 syst. +30 diast.	+43	+45	—351	+1,60	+515	+232	+32
mittl.	+ 88	+ 84	+ 8	+39 syst. +10 diast.	+22	+29	—168	+0,69	+188	+141	+12
min.	+ 39	+ 10	—14	+ 4 syst. + 4 diast.	+ 5	— 2	— 29	±0	+30	+55	±0

Tab. 1 gibt die mittlere, maximale und minimale Kreislaufumstellung bei den 10 von uns untersuchten Fällen nach Peripherin an.

Besprechung der Ergebnisse.

Unsere Untersuchungsergebnisse gestatten einige Aussagen über die Umstellung der Kreislaufgrößen beim Herz- und Kreislaufgesunden nach Applikation von Peripherin.

Im Vordergrund steht die erhebliche Steigerung des Herzminutenvolumens um + 88% im Mittel. Im arteriellen Schenkel des Kreislaufsystems wirken nach den eingangs gemachten pharmakologischen Erörterungen die beiden Teilkomponenten antagonistisch, nämlich das Ephedrin als Gefäßverengerer, das Theophyllin als Gefäßerweiterer. Betrachtet man aber die großen Gefäße und die Arteriolen gesondert, so läßt sich aus unseren Versuchsergebnissen ableiten, daß bei ersteren offenbar die Ephedrinwirkung und bei letzteren die Theophyllinwirkung überwiegt. Diese Auslegung stimmt überein mit den tierexperimentellen Ergebnissen von Hou[8], wonach am Kaninchenohr Ephedrin die Arterien, nicht aber die kleineren Gefäße kontrahiert. Dementsprechend finden wir bei der Kreislaufanalyse eine Zunahme der Pulswellengeschwindigkeit bzw. des elastischen Gefäßwiderstandes und eine geringe Abnahme des peripheren Gesamtwiderstandes. Die leichte Zunahme des gesamten peripheren Widerstandes, die andere Untersucher mit der physikalischen Methode fanden, könnte auf der Auswahl der Fälle beruhen. Wir sahen bei vergleichsweiser physikalischer Bestimmung nach Brömser u. Ranke[1] auch mit dieser Methode ein Absinken des peripheren Gesamtwiderstandes. Dabei ist in Betracht zu ziehen, daß der Herzkatheterismus als solcher die Ausgangslage je nach der Empfindlichkeit des Patienten zu ändern vermag (Siedek u. Mitarb.[15]). Das häufig von den Patienten geäußerte Wärmegefühl nach der Peripherinapplikation möchten wir im Sinne einer gesteigerten Hautdurchblutung deuten. Inwieweit andere Kreislaufbezirke, wie z. B. die Mesenterialgefäße (Meier u. Mitarb.[11]) eine Minderdurchblutung erfahren, ist mit der von uns angewandten Methodik nicht zu ermitteln.

Im rechten Ventrikel und in der A. pulmonalis beobachteten wir einen unmittelbar nach der Injektion einsetzenden Druckanstieg in 7 von 8 Fällen (Abb. 2). Dieser Druckzuwachs im rechten Herzen ist besonders auffällig im Hinblick auf die Befunde von Cournand u. Mitarb.[2], Hickam u. Cargil[7] sowie Riley u. Mitarb.[14], die bei stark erhöhter Lungendurchblutung nach körperlicher Arbeit keine Erhöhung der Mitteldrucke im kleinen Kreislauf fanden. Der Druckanstieg bei unseren Untersuchten ist nach diesen Befunden nicht allein mit der Minutenvolumensteigerung zu erklären. Vielmehr dürfte ein besonderer pharmakologischer Effekt vorliegen, dessen Wirkungsmechanismus vorerst hypothetisch bleibt. In

diesem Zusammenhang sind neuere tierexperimentelle Befunde von besonderem Interesse, wonach die i. v.-Injektion von reinem Adrenalin ebenfalls zu einer Erhöhung des Druckes im rechten Ventrikel führt (Halpern u. Mitarb.[6]).

Abb. 2. Druckkurven des rechten Ventrikels. *a)* vor Peripherin. *b)* 3 min 30 sec nach Peripherin *c)* 15 min nach Peripherin. (Eichung der Druckkurven: mmHg. Ekg in Abl. II.)

Unsere Untersuchungen bestätigen somit in den wesentlichen Punkten die von anderen Autoren mit den physikalischen Methoden der Kreislaufuntersuchung gewonnenen Ergebnisse. Darüber hinaus geben sie uns einige wichtige Aufschlüsse über die Umstellung des Lungenkreislaufs unter der Wirkung eines sowohl peripher als auch zentral angreifenden Kreislaufmittels. Den möglichen Einwand, daß unsere an gesunden Versuchspersonen gewonnenen Befunde nicht auf den kreislaufkranken Menschen übertragbar seien, halten wir für unberechtigt (Wezler[19]). Es liegt im Wirkungscharakter sympathikomimetischer Substanzen, daß sie grundsätzlich die gleichen Wirkungen beim Gesunden und beim Kranken entfalten. Bei einer Erniedrigung der vegetativen Augangslage ist das Ausmaß ihrer Wirkung sogar in den meisten Fällen noch größer. Wir dürfen daher wohl mit Recht annehmen, daß die Applikation des Peripherins beim kreislaufkranken Menschen eher eine höhere prozentuale Änderung der Kreislaufgrößen zur Folge hat.

Hinsichtlich der klinischen Anwendung ergibt sich, daß das Kombinationspräparat Peripherin als vorteilhaft für die Therapie bestimmter Kollapsformen angesehen werden darf. Zurückhaltung gegenüber

der Anwendung des Präparates erscheint bei Erkrankungen am Platze, die mit einer Drucksteigerung im kleinen Kreislauf einhergehen (wie z. B. bei der Mitralstenose und beim Cor pulmonale), da nach unseren Messungen die Drucke in der A. pulmonalis und im rechten Ventrikel nach Peripherinapplikation ansteigen. Wie weit allerdings diese Zurückhaltung auch für andere Kreislaufmittel zu gelten hat, entzieht sich zur Zeit unserer Kenntnis. Sie erscheint nach den oben zitierten Befunden von Halpern für alle Adrenalinderivate geboten, solange keine gegenteiligen Befunde beim Menschen vorliegen.

Literatur.

[1] Brömser u. Ranke: Z. Biol. **90**, 467 (1930). — [2] Cournand: Circulation **2**, 641 (1950). — [3] Gatzek u. Mechelke: Z. Kreislaufforschg. **37**, 673 (1948). — [4] Gorlin u. Gorlin: Amer. Heart J. Vol. **41**, 1 (1951). — [5] Gorlin, Haynes, Goodale, Sawyer, Dow u. Dexter: Amer. Heart J. Vol. **41**, 30 (1951). — [6] Halpern, Cruchaud, Vermeil u. Roux: Arch. internat. Pharmacodynamie **82**, 4 (1950). — [7] Hickam u. Cargill: J. Clin. Invest. **27**, 10 (1948). — [8] Hou: Chinese J. Physiol. **6**, 243 (1932) (zit. nach Sollmann). — [9] Knebel: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 615 (1947). — [10] Kohlstaedt u. Lürmann: Die Pharmazie **2**, 305 (1947). — [11] Meier, Gross u. Reichenberger: Helv. Physiol. Acta **7**, 230 (1949). — [11a] Meier, Tripod u. Wirz: Helvet. Physiol. Acta **7**, 210 (1949). — [12] Neuhaus: Verh. dtsch. Ges. Kreislaufforschg. XIII, **1950**. — [13] Osterwald u. Meurer: Z. Kreislaufforschg. **31**, 16 (1939). — [14] Riley, Himmelstein, Motley, Weiner u. Cournand: Amer. J. Physiol. **152**, 372 (1948). — [15] Siedek, Wenger u. Wick: Z. Kreislaufforschg. **40**, 648 (1951). — [16] Sollmann: A Manual of Pharmacology **7** Ed. (1949). Philadelphia and London: W. B. Saunders Company. — [17] Starr u. Mitarb.: J. Clin. Invest. **16**, 799 (1937) (zit. nach Goodmann and Gilman „The Pharmacological Basis of Therapeutics Macmillan Comp. 1949). — [18] Wezler u. Thauer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **201**, 105 (1943). — [19] Wezler: Die Pharmazie **2**, 300 (1947).

Dozent Dr. O. Bayer, I. Medizinische Klinik der Medizinischen Akademie Düsseldorf.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 360—365 (1953).

Aus dem Pharmakognostischen und dem Pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck (Direktoren: O. Schaumann und A. Jarisch).

Analgetika und Darmmotorik. II. Wirkung auf den Längsmuskeltonus.

Von

O. Schaumann, K. Jochum und W. Schaumann.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. August 1952.)

In einer früheren Veröffentlichung[1] wurde gezeigt, daß die hemmende Wirkung der morphinähnlichen (mo.-ä.) Analgetika auf die Peristaltik des Meerschweinchendünndarms in der Versuchsanordnung nach Trendelenburg ihrer analgetischen Wirksamkeit parallel geht und von ihrer Wirkung gegenüber kontraktionserregenden Giften (Acetylcholin, Histamin) vollkommen unabhängig ist. Diese Wirkung wurde als Durchbrechung eines Reflexbogens aufgefaßt und mit dem Mechanismus der Analgesie als Unterbrechung des Schmerzreflexes in Parallele gesetzt. Dabei wurde die Beobachtung gemacht, daß die Unterdrückung der peristaltischen Wellen durch die mo-ä. Analgetika stets auch mit einer Verminderung des durch den Innendruck gesteigerten Längsmuskeltonus verknüpft ist.

Da diese Tonusänderung eine quantitativ besser auswertbare Größe ist als die immerhin etwas launenhafte peristaltische Welle, wurde nun versucht, eine isolierte Tonuserhöhung der Längsmuskulatur des Meerschweinchendünndarms zu Untersuchungen über die Wirkung der mo-ä. Analgetika heranzuziehen.

Zu diesem Zweck mußten erst die Bedingungen gefunden werden, unter denen durch Erhöhung des Innendrucks zwar eine Verkürzung der Längsmuskulatur, aber keine peristaltische Welle ausgelöst wird.

Die allgemeine Versuchsanordnung war wie in der vorhergehenden Mitteilung die Methode von Trendelenburg[2]. Für die als Badflüssigkeit verwendete Fleischlösung[3] wurde wegen der schwierigen Beschaffung der nötigen großen Mengen wirklich einwandfreien destillierten Wassers Leitungswasser unter Berücksichtigung seines Calciumgehaltes verwendet. Dies hat sich in unseren Versuchen mit dem relativ wenig gelöste Substanz enthaltenden Innsbrucker Leitungswasser ausgezeichnet bewährt.

Zur Unterdrückung der Peristaltik wurden folgende Wege versucht:

1. Ermüdung der Peristaltik. Wie schon Trendelenburg gefunden hat, hört bei gleichbleibendem Innendruck die Peristaltik nach einiger Zeit von selbst auf. Zum Unterschied von der Peristaltikhemmung durch die mo-ä. Analgetika bleibt dabei bei guten Darmpräparaten die Längsmuskulatur verkürzt, bis nach einiger

Zeit eine neue Gruppe peristaltischer Wellen auftritt. Diese Pause zwischen 2 peristaltischen Wellen kann dann zum Studium des isolierten Längsmuskeltonus verwendet werden.

2. Änderung der p_H *und der Temperatur der Tyrodelösung.* Um suboptimale Bedingungen zu schaffen, wurde die p_H der Fleischlösung zwischen 6,5 –7,8 variiert. Der gesuchte Zweck einer Zurückdrängung derPeristaltik bei erhaltener Längsmuskelverkürzung wurde dadurch ebensowenig erreicht wie durch eine Herabsetzung der Badtemperatur bis auf 31°.

3. Herabsetzung des Ca-Gehaltes. In Anlehnung an den Vorschlag von Kochmann[1], den Spontanrhythmus des Meerschweinchenuterus durch Herabsetzung des Ca-Gehaltes der Tyrodelösung zu unterdrücken, wurde bei sonst gleichbleibender Zusammensetzung der Ca-Gehalt der Badflüssigkeit auf die Hälfte herabgesetzt. Diese Modifikation hat sich schließlich am besten bewährt und wurde in der überwiegenden Mehrzahl der Versuche angewandt. Durch langsame Steigerung des Innendruckes auf 1—2 cm Wassersäule kann man so eine beachtliche Verkürzung der Längsmuskulatur erzielen, ohne daß zunächst Peristaltik eintritt, die allerdings bei weiterer Steigerung des Innendrucks dann schließlich auch unter diesen Bedingungen einsetzt. Da unter diesen Bedingungen der Längsmuskeltonus sehr empfindlich auf Änderungen des Innendruckes anspricht, muß darauf geachtet werden, daß dieser sich im Laufe der Versuche nicht ändert. Der Flüssigkeitsspiegel im Badgefäß muß daher auf gleicher Höhe gehalten werden. Es wurde deshalb nach Zusatz der zu prüfenden Lösung und Durchmischung immer ein der zugesetzten Flüssigkeitsmenge gleiches Volumen der Badflüssigkeit wieder entfernt.

Nach dieser Methode kann man, wie die nachfolgenden Kurvenbeispiele 1—3 zeigen, die verschiedenen Analgetika ausgezeichnet auf ihren

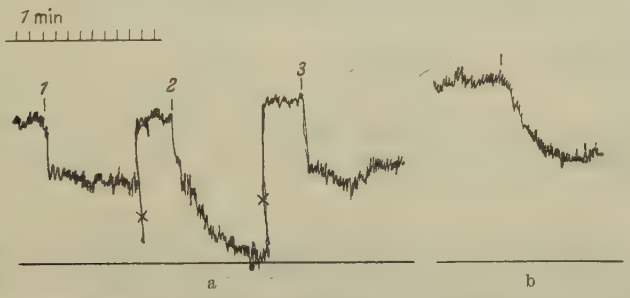


Abb. 1. Fleischlösung mit halbem Ca-Gehalt. Innendruck 1 cm; die Basislinie gibt den Ruhetonus an. Bei x Auswaschen. a) 1. Dolantin 4,0 γ; 2. Dol. 6,0 γ; 3. Morphin 0,6 γ. b) dasselbe Darmstück: 0,5 γ Atropin; allmähliche Tonussenkung etwa wie nach 0,6 γ Mo.

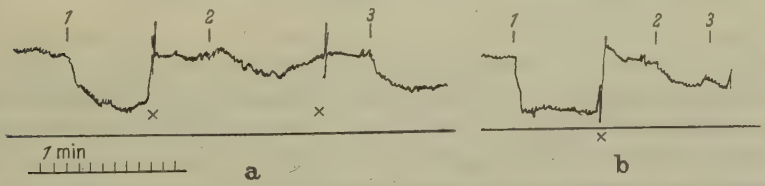


Abb. 2. Innendruck dauernd 1 cm; normale Fleisch-Lösung, bei x Auswaschen. a) bei 1. l-Methyl-oxymorphinan 0,4 γ; bei 2. d-Methyl- oxymorphinan 20 γ; bei 3. l-Methyl-oxymorphinan 0,2 γ. b) dasselbe Darmstück: bei 1. l-Methyl-oxymorphinan 0,3 γ; bei 2. d-Methyl-oxymorphinan 100 γ; bei 3. l-Methyl-oxymorphinan 0,3 γ unwirksam.

Wirkungswert vergleichsweise prüfen. Wie in der vorhergehenden Mitteilung am Peristaltikreflex, so ergaben sich auch jetzt am Längsmuskeltonus Verhältniszahlen, die dem analgetischen Wirkungsverhältnis parallel gehen. Besonders deutlich zeigt sich dies auch hier wieder bei den

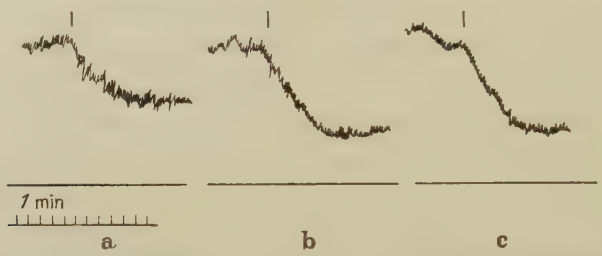


Abb. 3. 1 cm Innendruck; Fleischlösung mit halbem Ca-Gehalt. a) 0,6 γ l-Polamidon; b) 1,0 γ l-Polamidon; c) 10 γ d-Polamidon.

optischen Isomeren der gleichen Verbindung; so dem d- und l-2-Dimethylamino-4,4-diphenylheptanon-5 (Polamidon) und besonders am d- und l-N-Methyl-3-Oxymorphinan (Dromoran). Die beifolgende *Tabelle* gibt

Tabelle.

Präparate	Peristaltik[1]	Analgesie[1]	Tonus
d-Pol : l-Pol.	1/15	1/7—1/12,5	1/10
d-Drom. : l-Drom. . .	< 1/300	< 1/50	< 1/300
Mo : .-Drom	1/2	(1/3,4	1/3
Mo : l-Pol.	1/1,7	—	1/3
Mo : l-Pol.	1/1,7	—	1/2
l-Pol. : l-Drom. . . .	—	—	1/2
Dol. : 10720	1/12	1/10	1/10
Dol. : Mo	—	1/7	1/7

Pol. 2-Dimethylamino-4,4 diphenylheptanon-5 (Polamidon); *Dol.* 1-Methyl-4-phenylpiperidincarbonsäureäthylester (Dolantin); 10720 1-Methyl-4-(3-oxyphenyl)-piperidino-äthylketon; *Drom.* N-Methyl-oxymorphinan.

eine Übersicht über die an der Peristaltik, dem Längsmuskeltonus und der Analgesie gefundenen Wirkungsverhältnisse.

Einen kleinen Nebenbefund, der noch weiter verfolgt werden soll, zeigt noch Kurve 2. Bei Anwesenheit einer großen Dosis von d-N-Methyl-Oxymorphinan bleibt die Wirkung des l-Isomeren aus. Es scheint also eine Konkurrenzhemmung zwischen den beiden Isomeren zu bestehen.

Mit der gleichen Versuchsanordnung läßt sich auch sehr schön der Unterschied zwischen der Tonuserhöhung der Längsmuskulatur infolge direkter Erregung durch Acetylcholin und Histamin einerseits und derjenigen durch Steigerung des Innendrucks sowie die differente Wirkung

des Mo auf diese beiden Arten einer Tonussteigerung zeigen. Gibt man am drucklosen Darm eine submaximal kontrahierende Dosis von Acetylcholin bzw. Histamin, so kann man durch Steigerung des Innendruckes eine weitere Verkürzung der Längsmuskulatur erzielen. Mo hebt nur diese durch Drucksteigerung erzielte Tonuserhöhung auf, nicht aber den auf Acetylcholin bzw. Histamin beruhenden Anteil. Erst der sowohl vagolytisch wie histaminolytisch wirkende 1-Methyl-4-Phenylpiperidin-

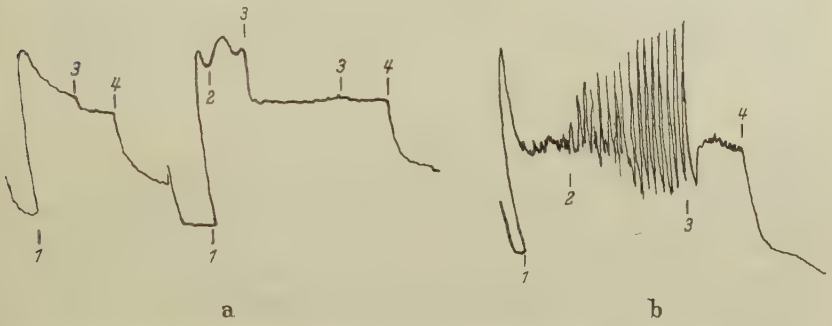


Abb. 4. Fleischlösung mit halbem Ca-Gehalt; bei x Auswaschen. a) bei 1. 2 γ Histamin, bei 2. Steigerung des Innendruckes auf 1,5 cm; bei 3. jedesmal 40 γ Morphin, bei 4. 5 γ Dolantin. Auch durch die sehr hohe Mo-Gabe wird der Tonus nur um den auf der Drucksteigerung beruhenden Anteil gesenkt, erst Dolantin wirkt auch gegen Histamin. b) Anderes Darmstück: bei 1. 0,2 γ Azetyl-Cholin, bei 2. Steigerung des Innendruckes auf 5,5 cm; die Peristaltik wird durch 2 γ Mo bei 3. aufgehoben, ohne daß die durch das Azetycholin bewirkte Tonussteigerung vermindert wird, erst 10 γ Dolantin bei 4. heben die Azetylcholinwirkung auf.

carbonsäureäthylester (Dolantin) paralysiert dann auch die Acetylcholin- bzw. Histaminwirkung (Abb. 4).

Schließlich sei noch eine Beobachtung mitgeteilt, deren Verfolgung vielleicht weitere Aufschlüsse über den Mechanismus der reflektorischen

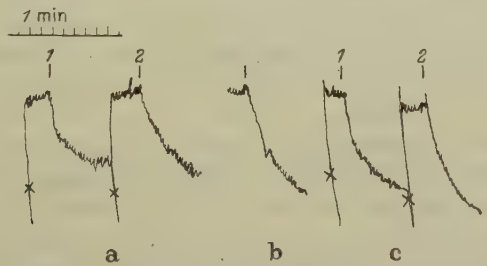


Abb. 5. Fleischlösung mit halbem Ca-Gehalt. Negativer Innendruck von 1 cm. Bei x Auswaschen, bei stillstehendem Kymographion; der unterste Punkt der Linie gibt dabei die Höhe des Ausgangstonus an. a) bei 1. 0,4 γ Morphin; bei 2. 0,1 γ 1-Methyl-oxymorphinan. b) 0,2 γ l-Polamidon, c) bei 1. 0,4 γ Morpin; bei 2. 1.0 γ Atropin.

Darmmotorik geben könnte. In einzelnen Fällen wurde nach längerdauernden Versuchen am selben Darmstück beobachtet, daß auch ohne Innendrucksteigerung, selbst bei negativem Innendruck, eine allmählich

zunehmende Verkürzung der Längsmuskulatur eintrat, die durch Spülen aber auch durch Mo sowie durch Atropin aufgehoben werden konnte (Abb. 5).

Besprechung der Versuche.

Der Nachweis, daß durch die mo-ä. Analgetika entsprechend ihrer analgetischen Wirksamkeit nicht nur der Peristaltikreflex, sondern auch die durch Steigerung des Innendrucks bewirkte Tonussteigerung der Längsmuskulatur aufgehoben wird, spricht wohl mit großer Wahrscheinlichkeit dafür, daß auch diese als reflektorisch bedingt aufzufassen ist. Daß sie nicht rein myogener Natur sein dürfte, wie dies Feldberg u. Lin[5] auf Grund ihrer Versuche mit Lokalanästheticis und Curare annehmen, geht daraus hervor, daß die in unseren Versuchen stark tonussenkenden Verbindungen, Mo und N-Methyl-Oxymorphinan, gegenüber Tonussteigerungen durch Acetylcholin, Histamin oder Barium unwirksam sind. Am klarsten zeigen das die Versuche, in denen bei kombinierter Anwendung von Acetylcholin bzw. Histamin und Innendrucksteigerung durch Mo nur der auf der Drucksteigerung beruhende Anteil der Längsmuskelverkürzung aufgehoben wird, dagegen nicht der durch Acetylcholin bzw. Histamin bedingte Anteil.

Auch die vorliegenden Versuche sind daher geeignet, die in der vorhergehenden Mitteilung gezogene Schlußfolgerung zu stützen, daß durch die mo-ä. Analgetika der Reflexbogen in den betreffenden Schaltstellen unterbrochen wird, da eine Wirkung, vor allem des Mo und des N-Methyl-Oxymorphinan auf Receptor oder Erfolgsorgan nach den bisherigen experimentellen Erfahrungen ebenso unwahrscheinlich ist wie auf die afferenten und efferenten Leitungsbahnen.

Einer besonderen Besprechung würden noch die Beobachtungen an der ohne Druckreiz mitunter auftretenden Tonuserhöhung der Längsmuskulatur bedürfen. Die Auswaschbarkeit und die allmähliche Wiederkehr könnten zunächst auf einen humoralen Ursprung durch einen in die Badflüssigkeit übertretenden Stoff hindeuten. Am nächstliegenden wäre es, dabei an den von Euler u. Gaddum[6] beschriebenen Faktor P und den von Vogt[7] untersuchten „Darmstoff" zu denken. Während aber diese Stoffe von den Autoren als atropinfest beschrieben wurden, ließ sich in unseren Versuchen die spontane, ebenso wie die durch Innendruckerhöhung erzielte Tonussteigerung durch Atropin aufheben. Besonders bemerkenswert ist aber, daß sie auch durch Mo zu beseitigen war. Damit fällt auch die Möglichkeit weg, daß es sich um in der Badflüssigkeit angereichertes Acetylcholin handeln könnte, da Mo gegen dieses unwirksam ist. Ebensowenig kann es sich um Histamin handeln, da gegen dieses sowohl Mo wie auch Atropin in den verwendeten Dosen versagen.

Schon nach diesen Beobachtungen ist ein humoraler Mechanismus dieser spontanen Tonussteigerung durch einen in die Badflüssigkeit übergetretenen „Erregungsstoff" recht unwahrscheinlich geworden. Eine Erklärung des Mechanismus dieser Tonussteigerung sowie ihrer Aufhebung durch mo-ä. Analgetika ist ohne gewagte Hypothesen vorläufig nicht möglich. In ihrem Verhalten entspricht sie weitgehend der durch Innendrucksteigerung ausgelösten Tonuserhöhung, so daß zwischen beiden Arten der Verkürzung der Längsmuskulatur wohl ein innerer Zusammenhang bestehen könnte. Hierüber können erst weitere Versuche Aufschluß geben, die bereits in Angriff genommen wurden.

Zusammenfassung.

Der durch Innendrucksteigerung am isolierten Meerschweinchendarm unter den beschriebenen Umständen erzielbare isolierte Tonusanstieg der Längsmuskulatur wird durch mo-ä. Analgetika entsprechend ihrer analgetischen Wirksamkeit gesenkt.

Dies spricht dafür, daß auch diese Tonuserhöhung für sich ein reflektorischer Vorgang ist, der durch die Analgetika dieser Gruppe durchbrochen wird.

Auch die nach längerer Versuchsdauer ohne Innendrucksteigerung auftretende spontane Tonuserhöhung der Längsmuskulatur wird durch Morphin, aber auch durch Atropin aufgehoben. Ein in die Badflüssigkeit übertretender „Erregungsstoff" scheint dabei keine Rolle zu spielen.

Literatur.

[1] Schaumann, O., M. Giovannini u. K. Jochum: Arch. exper. Path. u. Pharmakol., im Druck (1952). — [2] Trendelenburg, P.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **81**, 55 (1917). — [3] Fleisch, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **94**, 22 (1922). — [4] Kochmann, M.: Hoppe-Seylers Z. **115**, 304 (1921). — [5] Feldberg, W., a. R. C. Y. Lin: Brit. J. Pharmacol **4**, 33 (1949). — [6] Euler, U. v., u. J. A. Gaddum: J. of Physiol **72**, 74 (1931). — [7] Vogt, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol **206**, 1 (1949); **210**, 31 (1950).

Prof. Dr. O. Schaumann, Innsbruck,
Pharmakognostisches Institut der Universität, Peter-Mayr-Str. 1.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 366—373 (1953).

Aus der Med. Universitätsklinik Freiburg/Br. (Dir. Prof. Dr. L. Heilmeyer) und der Abteilung für experimentelle Therapie der Universität Freiburg (Leiter Dozent Dr. P. Marquardt).

Untersuchungen über die Leberlymphe.

II. Mitteilung: Übertritt von kolloidalen Farbstoffen und hochmolekularen Substanzen aus dem Blut in die Leberlymphe.

Von

Hans Adolf Kühn und Gerhard Hildebrand.

(Eingegangen am 17. September 1952.)

In der ersten Mitteilung haben wir über den Eiweißgehalt und die Verteilung der Fraktionen in der Leberlymphe von normalen Hunden und Katzen und tetrachlorkohlenstoffvergifteten Hunden berichtet (Kühn u. Hildebrand). Wir hatten in Übereinstimmung mit älteren Beobachtungen von Starling und neueren Angaben amerikanischer Autoren bei Hunden 70—80%, bei Katzen bis 97,8% der Bluteiweißkonzentration in der Leberlymphe gefunden. Mit Tetrachlorkohlenstoff vergiftete Hunde zeigten trotz histologisch nachgewiesenen, zum Teil ausgedehnten läppchenzentralen Lebernekrosen keine oder nur unbedeutende Veränderungen der Eiweißkonzentration und der Verteilung der Fraktionen in Blut und Leberlymphe.

Die im folgenden beschriebenen Versuche sollen entscheiden, ob das Eiweiß der Leberlymphe dem Blut entstammt — was eine außerordentlich hohe Permeabilität der Lebercapillaren voraussetzen würde — oder ob es sich um in den Leberzellen neugebildetes Eiweiß handelt, welches im Verlauf der intrahepatischen Plasmaeiweißbildung auf dem Wege über die Disseeschen Spalten in das Lymphsystem der Leber gelangt ist. Beide Auffassungen sind in der Literatur vertreten (vgl. die erste Mitteilung).

Wir haben versucht, diese Frage dadurch zu klären, daß wir kolloideale Farbstoffe und hochmolekulare Substanzen (Kollidon, Fremdeiweiß) den Versuchstieren intravenös injizierten, ihren Übertritt in die Leberlymphe prüften und soweit möglich, die in der Leberlymphe erreichte Konzentration mit der im Blut herrschenden verglichen.

Ältere Untersuchungen.

Schon Smith hat gezeigt, daß Brillantvitalrot 2 min nach intravenöser Injektion in den Lymphgefäßen der Leberpforte erscheint und 20 min später 80% der im Blut herrschenden Konzentration erreicht. Der Unterschied zwischen den Farbstoffkonzentrationen in Blut und Leberlymphe entsprach genau dem des Eiweißes; auch in Lymphproben aus anderen Körpergebieten (z. B. vom Bein) ging die Farbstoffkonzentration immer der des Eiweißes parallel. Häufiger ist der

Übertritt von Farbstoffen aus dem Blut in die Ductus-thoracicus-Lymphe geprüft worden. So fanden Meyer-Bisch und Lampe, daß Trypanblau beim Hund 8 min, Trypanrot 10 min nach intravenöser Injektion in der Lymphe erscheint. Die höchste Konzentration wurde 48 min nach der Injektion erreicht, sie betrug etwa $^1/_3$ der höchsten im Blutplasma gemessenen Konzentration. Ähnliche Beobachtungen wurden von Keith u. Mitarb. sowie Harris gemacht. Bakterien treten dagegen unter normalen Verhältnissen nicht in die Ductus-thoracicus-Lymphe über (Petersen, Milles u. Müller, Kunz u. Popper) wohl aber nach Allylformiat- und Histaminvergiftung (Kunz u. Popper).

Eigene Untersuchungen.

1. Technik. Die Versuche wurden an Hunden und Katzen durchgeführt. Zur Gewinnung der Leberlymphe wurde die gleiche Technik angewandt, wie bei den früheren Versuchen. Das gleiche gilt für die Narkose (bei Hunden Morphin-Pernocton, bei Katzen Pernocton ohne Morphinvorbereitung).

2. Versuchsergebnisse: Versuch Nr. 1. Intravenöse Injektion von Trypanblau bei einem nicht narkotisierten Kaninchen zum Studium möglicher Einflüsse der Narkose auf die Versuchsergebnisse.

Der Versuch wurde bereits in der ersten Mitteilung beschrieben, so daß an dieser Stelle nur das Ergebnis kurz wiederholt sei. 45 min nach der Injektion wurde in der Leberlymphe etwa die gleiche Farbstoffkonzentration gefunden wie im Blutplasma, während in der Darmlymphe der Farbstoff nur etwa in der halben Konzentration nachweisbar war.

Versuch Nr. 2. Leberlymphfistel und Ductus-choledochusfistel beim Hund. Injektion von 10 cm³ 1%iger Kongorotlösung in die Vena femoralis. Nach 5 min beginnt die Galle sich rot zu färben, gleichzeitig nimmt auch die Leberlymphe einen rötlichen Farbton an. 10 min nach der Injektion betrug die Kongorotkonzentration in der Leberlymphe 62% der im Blutplasma herrschenden Konzentration (stufenphotometrisch bestimmt). Der Eiweißgehalt der gleichen Lymphprobe betrug 60% des im Blutplasma gemessenen Wertes.

Versuch Nr. 3. Leberlymphfistel beim Hund. Intravenöse Injektion von 10 cm³ einer 1%igen Trypanblaulösung. Nach 5 min beginnt die Lymphe sich blau zu färben, nach 20 min war die Trypanblaukonzentration in der Lymphe auf etwa 35% der im Blut herrschenden Konzentration angestiegen. Der Eiweißgehalt der Leberlymphe betrug in diesem Falle 90% der Eiweißkonzentration des Blutplasmas. Anschließend wurden dem gleichen Tier 10 cm³ Periston (enthaltend 7% Kollidon) intravenös injiziert. 15 min später war Kollidon in der Leberlymphe deutlich nachweisbar (mit Trichloressigsäure nach vorheriger Enteiweißung mit Uranylacetat nach Schubert). In der Galle fand sich dagegen entsprechend den Beobachtungen von Schubert kein Kollidon, auch Trypanblau war höchstens in Spuren nachweisbar.

Versuch Nr. 4. Leber- und Darmlymphfistel bei der Katze. Intravenöse Injektion von 5 cm³ einer 1%igen Kongorotlösung. Photometrische Bestimmung der Farbstoffkonzentration im Blutplasma, Leber- und Darmlymphe (Filter S 53, Schichtdicke 0,1 cm), 1 Std nach Farbstoffinjektion.

Tabelle 1.

	Eiweiß g/100 cm³	% d. Bluteiweißkonzentration	Farbstoffkonzentration %
Blutplasma	4,74	—	100
Leberlymphe	4,02	84,8	72,6
Darmlymphe	3,44	72,5	41,2

Die Farbstoffkonzentration in der Leberlymphe beträgt eine Stunde nach der Injektion also fast das Doppelte der Konzentration in der Darmlymphe und kommt der Eiweißkonzentration prozentual nahe. In der Darmlymphe fällt der im Verhältnis zur Farbstoffkonzentration hohe Eiweißgehalt auf. In der *Galle* fand sich Kongorot in hoher Konzentration.

Versuch Nr. 5. Leber- und Darmlymphfistel bei der Katze. Intravenöse Injektion von 2 cm³ einer 1%igen Trypanblaulösung. Bestimmung der Farbstoffkonzentration im Stufenphotometer (Filter S 61, Schichtdicke 0,1 cm), 90 min nach Farbstoffinjektion.

Tabelle 2.

	Eiweiß g/100 cm	% d. Bluteiweißkonzentration	Farbstoffkonzentration %
Blutplasma	7,5	—	100
Leberlymphe	6,7	90,5	80
Darmlymphe	3,7	50	62

In der *Galle* war Trypanblau nicht mit Sicherheit nachweisbar.

Die Ergebnisse dieser Versuche stimmen gut mit den von früheren Autoren an der Ductus-thoracicus-Lymphe gemachten Beobachtungen überein. Sie sprechen dafür, daß der größere Teil des in der Ductus-Lymphe nach intravenöser Injektion auftretenden Farbstoffes *innerhalb der Leber* in die Lymphe übertritt.

Versuch Nr. 6. Intravenöse Injektion von 10 cm³ einer 6%igen Lösung von Kollidon (mittleres Molekulargewicht 114000*) bei der Katze. Leberlymphe wurde aus den auf der Pfortaderwand verlaufenden Lymphgefäßen, *oberhalb* der portalen Lymphknoten gewonnen. Qualitativer Kollidonnachweis wie in Versuch Nr. 3 beschrieben. In der 2 Std nach der Injektion gesammelten Leberlymphe starke Flockung nach Zugabe von Trichloresessigsäure, etwa ebenso stark wie im Blutserum; also reichlich Kollidon vorhanden. In der *Galle* konnte *kein* Kollidon nachgewiesen werden.

Versuch Nr. 7. Prüfung des Übertrittes von Fremdeiweiß aus dem Blut in die Leberlymphe. Leberlymphfistel bei der Katze unterhalb der portalen Lymphknoten. Intravenöse Injektion einer 3,2%igen Lösung von Rinderglobulin (Behringwerke). Anti-Rinderglobulinserum wurde durch Sensibilisierung eines Kaninchens erhalten, dem 2mal in Abstand von 14 Tagen 5 bzw. 10 cm³ einer 3%igen Lösung von Rinderglobulin intramuskulär injiziert worden waren. Der Nachweis des injizierten Rinderglobulins in der bis 45 min nach der Injektion gesammelten Leberlymphe erfolgte durch Präzipitation**. Dabei wurde folgendes Ergebnis erhalten:

Tabelle 3.

Verdünnung	Leberlymphe		Blutserum	
	vor Injekt..	nach Injekt.	vor Injekt	nach Injekt.
1: 10	∅	+++	∅	++++
1:100	∅	+	∅	++
1:200	∅	(+)	∅	+
1:400	∅	∅	∅	(+)

* Das hochmolekulare Kollidon wurde uns liebenswürdigerweise von Herrn Prof. Weese, Elberfeld zur Verfügung gestellt.

** Für die Hilfe bei dem Präzipitationsversuch sind wir Herrn Dr. Matthes zu großem Dank verpflichtet.

Das injizierte Rinderglobulin läßt sich also in etwas schwächerer Konzentration als im gleichzeitig entnommenen Blut in der Leberlymphe nachweisen.

Versuch Nr. 8. Prüfung des Übertrittes von Hämoglobin in die Leberlymphe bei der Katze. Injektion von 10 cm^3 destilliertem Wasser in die Vena femoralis. 15 min später wurde eine zunehmende Rotfärbung der Leberlymphe beobachtet, wobei es sich um eine deutliche Lackfärbung handelte.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Ergebnisse der beiden Versuchsreihen rechtfertigen unseres Erachtens die Annahme, daß die hohe Eiweißkonzentration der Leberlymphe in erster Linie Folge des Übertrittes von Plasmaeiweiß aus dem Blut in die Lymphe ist und nicht durch den Übertritt neugebildeten Eiweißes aus den Leberzellen in die pericapillären Lymphspalten verursacht wird. Für diese Deutung sprechen folgende Befunde:

1. Die Abhängigkeit der Gesamteiweißkonzentration der Leberlymphe von der des Blutplasmas (die auch in der Darmlymphe nachweisbar ist [vgl. Wells, Arnold u. Mendel]).

2. Die Beobachtung, daß die Verteilung der Fraktionen in Blut und Leberlymphe annähernd gleich ist, und daß die bei einigen Versuchen gefundene Differenz zu Lasten der höhermolekularen Eiweißkörper (Globuline) geht.

3. Die Tatsache, daß Prothrombin und Fibrinogen, deren Bildung nach der heute herrschenden Meinung vorwiegend den Leberzellen obliegt, in der Leberlymphe nicht stärker konzentriert sind als die anderen Plasmaeiweißkörper.

4. Die Ergebnisse der 2. Versuchsreihe, daß kolloidale Farbstoffe und hochmolekulare Substanzen aus dem Blut schnell in die Leberlymphe übertreten, sich zwischen beiden Medien entsprechend deren Eiweißkonzentration verteilen, und daß die gleiche Verteilung auch in Lymphproben aus anderen Körpergebieten nachweisbar ist (vgl. unsere Befunde an der Darmlymphe sowie die erwähnten Beobachtungen von Smith).

Die eingangs gestellte Frage, an welcher Stelle innerhalb der Leber der Übertritt von Plasmaeiweiß in die Lymphe erfolgt, ist auf Grund unserer Untersuchungen nicht ohne weiteres zu beantworten. Da die Leber in den periportalen Feldern über zahlreiche Regulationsmechanismen für den Zustrom des Blutes zum Läppchen verfügt (Coronini, Altmann, Freerksen, Knisely u. a.), ist auch eine Vorrichtung denkbar, die dazu dienen könnte, noch im Gebiet der Glissonschen Scheide, also *vor* dem Eintritt des Blutes in das Leberläppchen Plasma abzudrainieren, um auf diese Weise die korpusculären Elemente in den Sinusoiden anzureichern (vgl. Knisely).

Aus allgemein physiologischen Gründen, die im einzelnen anschließend besprochen werden, neigen wir aber mehr zu der Ansicht, daß der Übertritt von Plasmaeiweiß in die Lymphe *im Innern* des Leberläppchen

erfolgt, d. h. daß die Läppchencapillaren (Sinusoide) für die Plasma-Eiweißkörper, zumindest das Serumalbumin, frei durchlässig sind.

Es sei hier an die mehrfach geäußerte Ansicht erinnert, daß die Sinusoide kein geschlossenes Endothelrohr darstellen, sondern nur aus einem mit Endothelien ausgekleideten Gitterfaserrohr bestehen, das zahlreiche Lücken enthält (Pfuhl 1934, Herring und Simpson). Dieser Meinung möchten wir allerdings nicht beipflichten, einmal aus morphologischen Gründen, zum anderen wegen der Beobachtung, daß die Globulinkonzentrationen in der Leberlymphe häufig etwas geringer ist als im Blut, was dafür spricht, daß Globuline die Capillarwand nicht so mühelos passieren können wie Albumin. Das setzt aber die Existenz eines geschlossenen Endothelrohres voraus, dessen Permeabilität allerdings viel größer sein muß als bei Capillaren anderer Körpergebiete.

Vermutlich ist die Permeabilität der Lebercapillaren keine konstante Größe, sondern ändert sich, den jeweiligen Bedürfnissen entsprechend in weiten Grenzen. Sie ist jedoch auf einen weit höheren mittleren Grad, eingestellt als die der Capillaren anderer Gebiete (vgl. Knisely).

Aus diesen Erkenntnissen ergeben sich wichtige Folgerungen für die Frage der *Lymphbildung* in der Leber. Wenn die Lebercapillaren wirklich für die Plasmaeiweißkörper durchlässig sind, wenn also die Leberzellen unmittelbar vom Plasma bespült werden (With), so müßte dauernd ein sehr großer Plasmastrom aus der Leber fließen. Die hohe Capillarpermeabilität wird aber durch den niedrigen intrahepatischen Capillardruck, der in der Läppchenperipherie entsprechend dem Pfortaderdruck um 70—90 mm H_2O, im Läppchenzentrum dagegen um Null schwankt (Learmouth), weitgehend kompensiert. Diese beiden Größen sind sehr fein aufeinander abgestimmt (vgl. Field u. Mitarb.), so daß im allgemeinen nicht mehr Plasma aus den Capillaren ausströmt, als von den Zellen aufgenommen werden kann.

„Lymphe" wird durch die überschießende Plasmamenge gebildet, die nicht von den Zellen verarbeitet wird, möglicherweise vermehrt durch im Zellstoffwechsel freiwerdendes „Zellwasser" (Oehme, Asher). Da nur in den *peripheren* Abschnitten der Leberläppchen ein ausreichender hydrostatischer Druck in den Capillaren herrscht, wird wahrscheinlich nur in diesen Gebieten unter physiologischen Verhältnissen Lymphe gebildet. Im Läppchen*zentrum* dürfte wegen des geringen (teilweise negativen) Druckes kaum mehr Plasma aus den Capillaren austreten, als von den Leberzellen unmittelbar aufgenommen wird.

Für diese Auffassung sprechen auch die *anatomischen* Verhältnisse. Der Mensch und die meisten Säugetiere verfügen nur in den periportalen Feldern über Lymphgefäße (Pfuhl 1932). Es dürfte kein Zufall sein, daß nur Tiere mit einem gut ausgebildeten Lebervenensperrmechanismus (Lamson und Roca, Mautner und Pick, Popper, Tischendorf), besonders der Hund und die Wassersäugetiere, über Lymphgefäße auch in der Wand der Lebervenen und der größeren Zentralvenen verfügen. Während beim Menschen die Steigerung des Capillardruckes im Läppchenzentrum etwas Pathologisches ist und nur unter besonderen Verhält-

nissen, z. B. bei Rechtsdekompensation des Herzens verwirklicht wird, steigt bei Tieren mit Lebervenensperre offenbar auch im physiologischen Spiel der Kreislaufregelung (Drosselung des Blutzustroms zum Herzen) der Druck in den Capillaren des Läppchenzentrums an. Bei der hohen Permeabilität der Sinusoide braucht dieser Druckanstieg nur geringfügig zu sein, um den Plasmastrom aus den Capillaren sogleich erheblich anschwellen zu lassen (Bayliss und Starling, Volwiler). Bei diesen Tieren wird also auch unter physiologischen Verhältnissen im Läppchenzentrum Lymphe gebildet, die durch besondere läppchenzentrale Lymphgefäße abdrainiert werden muß. Beim Menschen sind dagegen solche Strukturen unnötig, hier genügen die periportalen Lymphgefäße, um die dauernd, aber nur in geringer Menge in den peripheren Läppchenabschnitten entstehende eiweißhaltige Lymphe abzuleiten.

Eine weitere Folgerung ergibt sich aus unseren Versuchen für das Verständnis der *Ausscheidungsfunktion* der Leber. Wir haben gesehen, daß sowohl kolloidale Farbstoffe wie bestimmte hochmolekulare Substanzen bald nach intravenöser Injektion in der Leberlymphe erscheinen, und zwar sowohl gallengängige Stoffe, z. B. Kongorot, als auch solche, die normalerweise nicht in die Galle ausgeschieden werden, wie Trypanblau und Kollidon (vgl. Höber u. Titajew, Schubert). Da Farbstoffe im Blut in Bindung an das Serumalbumin transportiert werden (Bennhold), dieses die Wand der Sinusoide frei passieren kann, die Galle aber normalerweise keine Serumeiweißkörper enthält, muß man folgern, daß die auszuscheidenden Stoffe *jenseits* der Capillarwand von ihrem Eiweißträger abgehängt werden, vermutlich an der Oberfläche der Leberzellen. Die „Auswahl" des auszuscheidenden Stoffes wird also allein von der Leberzelle getroffen und hängt nicht von seiner Fähigkeit ab, die Capillarwand zu passieren. Auch eine „Zuträgerrolle" der Kupfferschen Sternzellen ist nach unseren Ergebnissen nicht wahrscheinlich; sie wurde schon früher von namhaften Autoren abgelehnt (Pfuhl 1938, Höber u. Titajew, Tada, Wakabayashi).

Es wäre reizvoll zu prüfen, ob bei bestimmten Störungen der Leberzellpermeabilität, die zum Übertritt von Plasmaeiweiß in die Galle zur Albumincholie führen (vgl. Altmann und Kühn), Substanzen wie Trypanblau und Kollidon ebenfalls in der Galle erscheinen.

Die hohe Permeabilität der Lebercapillaren ist sicherlich ein wichtiges biologisches Prinzip, ohne das die Leber ihren mannigfachen Aufgaben im intermediären Stoffwechsel und bei der Ausscheidungsfunktion kaum gerecht werden könnte. Es sei nur an die Fermentproduktion, die Synthese bestimmter Plasmaeiweißkörper und die Eiweiß-Speicherungsfunktion der Leber erinnert, alles Aufgaben, die einen schnellen und ungehinderten Transport von Makromolekülen aus der Zelle in die Blutbahn und umgekehrt erfordern und somit sehr innige Beziehungen zwischen Parenchymzellen und Blutbahn zur Voraussetzung haben, so daß eine Blut-Gewebsschranke wie etwa im Bindegewebe in der Leber biologisch wenig sinnvoll wäre.

Unmittelbare Folgerungen ergeben sich aus unseren Versuchen schließlich für das Problem der *serösen Hepatitis*. Sind die intralobulären Capillaren wirklich für das Serumalbumin durchlässig, so kann einer weiteren Steigerung ihrer Permeabilität keine große Bedeutung für die Pathogenese der Leberkrankheiten zukommen. Der Hauptträger des onkotischen Druckes ist das Serumalbumin. Wird dieses von der Capillarwand nicht zurückgehalten, so ist der effektive onkotische Druck in den Sinusoiden gering, wenn nicht gleich Null. Zusätzliche Permeabilitätssteigerungen könnten die Capillarwand nur für die normalerweise etwas am Durchtritt gehinderten Globuline vollends permeabel machen, das dürfte sich auf die Flüssigkeitsbewegung aus den Capillaren aber kaum auswirken. Man könnte also mit Starling durchaus von einem *physiologischen Zustand der Entzündung* in der Leber sprechen.

Das *morphologische Bild* der serösen Hepatitis, also die Entfaltung der Disseeschen Spalträume und ihre Füllung mit eiweißreicher Flüssigkeit ist nach unserer Auffassung nicht eine Folge gesteigerter Capillarpermeabilität, sondern wird vorwiegend durch Steigerungen des intrahepatischen Capillardruckes verursacht (z. B. beim terminalen Kreislaufzusammenbruch), da der Capillardruck in der Leber nicht wie in Capillaren mit weniger durchlässiger Wand durch den onkotischen Druck der Plasmaeiweißkörper bis zum gewissen Grade aufgefangen wird, sondern sich unmittelbar auf die anliegenden Perenchymzellen auswirkt. Diese werden vom Plasma überschwemmt und schließlich von der Capillarenwand abgedrängt. Mit dieser Darstellung läßt sich das Bild der serösen Hepatitis als agonales Phänomen erklären, wie es auch Altmann und neuerdings Popper (1948) auf Grund morphologischer Beobachtungen getan haben. Auch die Entfaltung des Disseeschen Raumes über zugrundegehenden Leberzellen (Altmann, Kühn) läßt sich auf diese Weise erklären. Da keine semipermeable Membran zwischen Leberzellen und Blutbahn eingeschaltet ist, geben die Zellen bei beginnender Nekrobiose dem andrängenden Plasma nach und weichen von der Capillarwand zurück, so daß nunmehr ein pericapillärer Spaltraum optisch in Erscheinung tritt.

Unsere Untersuchungen sprechen somit für die Richtigkeit der Ansicht, daß die Pathologie der Leber in erster Linie eine Pathologie der Leber*parenchymzelle* ist (Büchner). Vorgänge am intralobulären Mesenchym, insbesondere Störungen der Permeabilität der Sinusoide, besitzen nach unserer Auffassung nicht die Bedeutung für die Pathogenese der Leberkrankheiten, die ihnen bislang zugemessen wurde.

Zusammenfassung.

1. Kolloidale Farbstoffe und hochmolekulare Substanzen (Kollidon, Fremdeiweiß) lassen sich kurze Zeit nach intravenöser Injektion in der Leberlymphe von Hunden und Katzen nachweisen.

2. Die Farbstoffe verteilen sich zwischen Blut, Leber- und Darmlymphe entsprechend dem Eiweißgehalt dieser Medien.

3. Die Ergebnisse, zusammen mit denen der ersten Mitteilung, sprechen dafür, daß der hohe Eiweißgehalt der Leberlymphe Folge des Übertrittes von Plasmaeiweiß aus dem Blut in die Lymphe ist. Die Sinusoide

scheinen also, entgegen der Meinung Eppingers, für die Plasmaeiweißkörper normalerweise durchlässig zu sein.

4. Die Folgerungen aus diesen Ergebnissen für die Frage der Lymphbildung und der Ausscheidungsfunktion der Leber sowie für das Problem der serösen Hepatitis werden besprochen.

Literatur.

Altmann, H. W.: Frankf. Z. Path. **60**, 376 (1949). — Altmann, H. W., u. H. A. Kühn: Klin. Wschr. **1949**, 44. — Arnold, R. M., u. L. B. Mendel: J. of Biol. Chem. **72**, 189 (1927). — Asher, L.: Biochem. Zbl. **4**, 1 (1905). — Bayliss, W. M., u. E. H. Starling: J. of Physiol **16**, 159 (1894). — Büchner, F.: Zbl. Path. **83**, 53 (1945). — Die allgemeine Pathologie der Zell- und Gewebsatmung, in Naturforsch. u. Med. in Deutschland 1939—1946. Wiesbaden: Dieterich 1948. — Coronini, C.: Zbl. Path. **82**, 241 (1944). — Eppinger, H.: Die Permeabilitätspathologie. Wien: Springer 1949. — Field, M. E., O. C. Leigh, J. W. Heim u. C. K. Drinker: Amer. J. Physiol. **110**, 174 (1934). — Freerksen, E.: Klin. Wschr. **1943**, 733. — Harris: zit. nach Meyer-Bisch u. Lampe. — Herring, P. T., u. S. Simpson: Proc. Roy. Soc. Med. **78**, 455 (1906). — Höber, R., u. A. Titajew: Pflügers Arch. **223**, 180 (1930). — Keith, Geraghty u. Rowntree: zit. nach Meyer-Bisch u. Lampe. — Knisely, M. H.: The Liver Lobule, in Liver Injury, 8. Confer. New York 1949. — Kunz, H., u. H. Popper: Z. klin. Med. **128**, 568 (1935). — Kühn, H. A.: Beitr. path. Anat. **109**, 589 (1947). — Kühn, H. A.: u. G. H. Hildebrand: Klin. Wschr. **1951**, 785. — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **217**, 43 (1953). — Lamson, P. D., u. J. Roca: J. of Pharmacol. **17**, 481 (1926). — Mautner, H., u. E. P. Pick: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **142**, 271 (1929). — Meyer-Bisch, R., u. W. Lampe: Z. exper. Med. **43**, 761 (1924). — Oehme, C.: In Handbuch norm. u. Path. Physiol. VI/2. Berlin: Springer 1928. — Petersen, W. F., G. Milles u. E. F. Müller: Z. exper. Med. **60**, 336 (1928). — Pfuhl, W.: in Handbuch mikr. Anat. V/2. Berlin: Springer 1932. — Z. Zellforschg. **20**, 390 (1934. — Anatom. Anz. **86**, 373 (1938). — Popper, H.: Klin. Wschr. **1931**, II, 2129. — Arch. of Path. (Amer.) **46**, 132 (1948). — Schubert, R.: Klin. Wschr. **1948**, 143. — Smith, H. P.: Bull. Hopkins Hosp. **36**, 325 (1925). — Starling, E. H.: J. of Physiol. **16**, 224 u. 230 (1894). — Tada, Y.: in Matsuo, Biologische Untersuchungen über Farbstoffe. Kyoto 1934. — Tischendorff, F.: Z. mikrosk. anat. Forschg **45**, 266 (1939). — Volwiler, W.: Proc. Staff. Meet. Mayo Clin. **25**, 2 (1950). — Wells, H. S.: Amer. J. Physiol. **101**, 421 (1932). — Wakabayashi, E.: in Matsuo, Biologische Untersuchungen über Farbstoffe. Kyoto 1934. — With, Th. K.: Acta med. scand. (Stockh.) **128**, 25 (1947); Suppl. 234 (1949).

Dr. Hans Adolf Kühn, Med. Univ.-Klinik, Freiburg/Br.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 374—381 (1953).

Aus der I. Med. Univ.-Klinik, Wien (Vorstand: Prof. Dr. E. Lauda)
und der Internen Abteilung des Paracelsus-Institutes in Bad Hall, Oberösterreich
(Leiter: Prof. Dr. E. Lauda).

Die Bestimmung der Permeabilität und Volumensänderung der isolierten Arterie mit Hilfe radioaktiv markierter Testlösungen.

Von
D. Hofmann-Credner.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. August 1952.)

Für Untersuchungen über physiologische und pharmakologische Wirkungen am isolierten Gefäßrohr haben Lange, Donomae und Sebastian[5, 6, 7] eine Methode angegeben, die es gestattet, den Durchtritt von Salzen und Flüssigkeiten durch die Gefäßwand zu beobachten und zu messen. Während mit der älteren Gefäßstreifen-Methode von Meyer und v. Frey[9] bei einer überdies recht unphysiologischen Vorbereitung des Gefäßpräparates (passive, maximale Dehnung des Arterienstreifens) lediglich die Längenveränderung der Ringmuskulatur erfaßt werden kann, bietet die Anordnung von Lange u. Mitarb. die Möglichkeit, Veränderungen des Gefäßinhaltes volumetrisch zu bestimmen.

Je nach der Art des Abfalles des Flüssigkeitsspiegels in der Meßcapillare unterscheidet Lange, ob es sich um eine Erhöhung oder Verminderung der Gefäßwand-Durchlässigkeit handelt oder um eine Tonusveränderung des gesamten Gefäßrohres im Sinne einer Kontraktion oder Erschlaffung. Zettler[15] hat versucht, durch Zusatz von Farbstoffen (Fluoreszin, Naphtholgelb) und deren colorimetrische Auswertung die Fehlermöglichkeiten der Methodik von Lange zu verringern. Rothlin[11] und Bürgi[1] verfeinerten in jüngster Zeit die Meßtechnik der Volumenbestimmung durch Einschalten von Druckausgleichskapseln und automatischer Registrierung. Diese Versuchsanordnungen gründen sich im wesentlichen auf die Voraussetzung, daß man die Testlösung der das isolierte Gefäß umspülenden Suspensionsflüssigkeit (Tyrode oder Ringer) zusetzt, in einer Konzentration, die weder physiologisch noch pharmakologisch je in Betracht kommt. Obwohl Lange angibt, daß er diesen, methodisch einfacheren Weg nur deshalb einschlägt, weil auch die Einbringung der Testlösung in das Arterienlumen gleiche Meßwerte ergäbe (ohne allerdings dafür Versuchsergebnisse zu veröffentlichen), trifft diese Annahme sicherlich nicht für alle Substanzen zu. Weiters erscheint auch die Annäherung an zumindest pharmakologische Konzentrationen der zu untersuchenden Wirkstoffe auch bei dem an und für sich unphysiologischen isolierten Gefäßapparat für viele Fragestellungen wünschenswert. Zeigen sich doch bei hohen Konzentrationen oft gerade umgekehrte Gefäßreaktionen als bei niederen.

Zum Studium der Wirkung des Jodes in seinen verschiedenen chemischen Formen waren wir daher gezwungen, die ursprüngliche Methode von Lange u. Mitarb. zu modifizieren, worüber wir im folgenden berichten möchten.

Methodik. Die Untersuchungen wurden an der isolierten Arteria femoralis von Schweinen und Jungkälbern (je 5 Präparate) durchgeführt. Diese Gefäßstücke wurden aus folgenden Gründen gewählt: 1. leichte, rasche und zerrungsfreie Entnahmemöglichkeit nach Tötung des Tieres im Schlachthaus, 2. methodisch

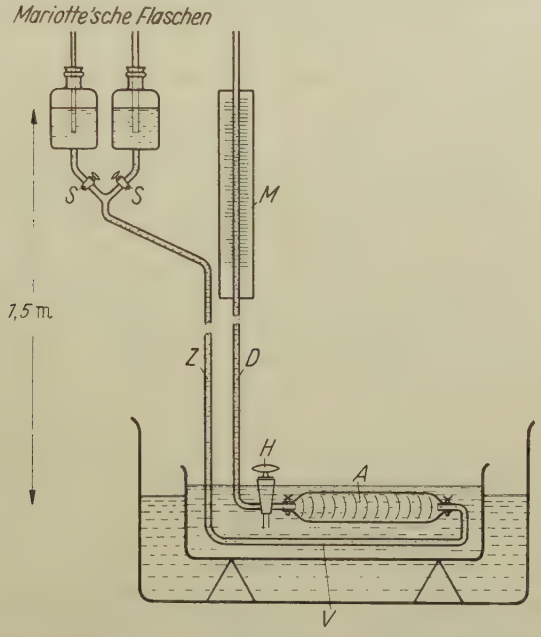


Abb. 1. Schematische, nicht maßstabgetreue Darstellung der Versuchsanordnung. Nicht eingezeichnet wurden: Stativ-Fixierung, Thermostat, automatisches Relais-Thermometer, Sauerstoffdurchperlung mit Vorwärmer, Wasserstrahlpumpen zum Durchwaschen des Systems und Bäderwechseln, Wasserzufuhr.

praktische Kalibergröße des Gefäßes, 3. im Gegensatz zu anderen Gefäßabschnitten konnten bei der A. femoralis bis zu 10 cm lange Arterienrohre gefunden werden, ohne die Methode wesentlich beeinflussende Gefäßabgänge, größere Vasa vasorum usw., 4. dieses Gefäßstück besitzt vorwiegend muskuläre Elemente.

Der Aufbau der Apparatur ist in Abb. 1 schematisch, ohne Maßstabtreue, wiedergegeben. Die Versuchsanordnung lehnt sich weitgehend an jene von Lange u. Mitarb. in der Modifikation von Zettler an. Ein 6—10 cm langes, zerrungsfrei entnommenes Gefäßrohr *A* wird zwischen die verjüngend zulaufenden Enden zweier Meßcapillaren fest eingebunden, wobei das zentrale Gefäßende mit einer oder mehreren Mariotteschen Flaschen, das distale mit einer Meßcapillare *D* in Verbindung steht. Es hat sich als praktisch erwiesen, die beiden Glascapillaren *Z* und *D* an *einem* Stativ zu fixieren, was ein störungsfreies Hantieren mit dem Gefäßpräparat beim Durchspülen, Abspülen, Durchlässigkeitsprüfen usw. ganz außerordentlich erleichtert. Für alle Versuche stellten wir den intraarteriellen Druck auf

150 cm Wassersäule ein. In einem Vorversuch wird die Gefäßwanddurchlässigkeit unter diesem Druck im Ringer-Bad überprüft, indem der intravasalen Flüssigkeit ein Farbstoff zugesetzt wird, der die Gefäßwand nicht zu durchdringen vermag (Tusche, Kongorot, Methylenblau usw.). Tritt der Farbstoff in die Suspensionsflüssigkeit über, so wird, nach Herausheben des Präparates durch Abtupfen mit Filterpapier die Stelle des Austrittes bestimmt, das Gefäßrohr entweder verkürzt oder unter Umständen ganz verworfen und durch eine neues ersetzt. Arterienstücke, die nur durch Ligaturen „abgedichtet" werden konnten, wurden nicht verwendet, da eine sichere Kontrolle der Unterbindung während des relativ langen Experimentes nicht gewährleistet ist. Zudem ist meist eine Gefäßwandverletzung durch eine solche Ligatur unvermeidbar und schafft damit für diesen Teil der Arterienwand andere Bedingungen als für die übrige. Wurde das Gefäßstück für „dicht" befunden, wird es in ein auf 37° C konstant gehaltenes, vorgewärmtes Warmblüter-Ringer-Bad gebracht. Die Menge des Bades betrug aus methodischen Gründen 50 cm^3. Während der Versuchsdauer wird die Temperatur des Bades durch einen Thermostaten und Rührvorrichtung gleichmäßig auf 37° C gehalten und mittels eines Relais-Thermometers laufend kontrolliert. Die Badeflüssigkeit wird ständig mit vorgewärmtem Sauerstoff durchperlt. Nach Anschließen der Capillare *Z* (zentrales Gefäßende) an ein System von 3—4 Mariotteschen Flaschen wird durch Öffnen der Klemme *S* das System mit der Arterie mit Ringer-Lösung gefüllt, bis sich der Flüssigkeitsspiegel in der Meßcapillare *D* in Höhe der Mariotteschen Flaschen eingestellt hat. Zur Beseitigung von Luftblasen und zur Durchspülung des Gefäßlumens wird an das Ende der Meßcapillare *D* eine Wasserstrahlpumpe mit mäßigem Sog angeschlossen und die ganze Anordnung für etwa 5 min durchströmt. Nach Abstellen der Wasserstrahlpumpe werden die Klemmen *S* verschlossen. Die im Vorwärmer *V* der zuführenden Capillare *Z* nun stehende Ringer-Lösung wird während 10 min auf die Badetemperatur von 37° C erwärmt. Dieser Vorwärmer (in Abb. 1 nur schematisch angedeutet) ist durch Größe und Form so dimensioniert, daß er ein größeres Volumen faßt als das eingebundene Gefäßstück. Nunmehr wird die Sperrklemme *S* wieder geöffnet, bis in der Meßcapillare *D* das Flüssigkeitsniveau eingestellt ist, sodann sofort wieder geschlossen. Alle verwendeten Glascapillaren hatten einen Durchmesser von 1,3 mm. Entsprechend der Durchlässigkeit der Gefäßwand sinkt nun der Flüssigkeitsspiegel in der Meßcapillare laufend ab. Nach einiger Zeit — meist schon nach etwa 15 min — ist eine Konstanz des Absinkens zu beobachten. Erst jetzt kann mit dem eigentlichen Versuch begonnen werden. Hierzu wird durch neuerliches Öffnen der Sperrklemme *S* das abgefallene Flüssigkeitsniveau in der Meßcapillare *D* wieder eingestellt und nach Schließen der Klemme das Absinken des Flüssigkeitsspiegels in Halbminuten-Intervallen, für die Dauer von 30 min an der Meßskala *M* abgelesen. Nach diesem Grundversuch mit Ringer-Lösung (intra- und extravasal) können nun in beliebiger Reihenfolge, Wiederholung und Abwechslung die einzelnen Testlösungen, jeweils nach gründlicher Durchspülung des gesamten Systems mit Ringer-Lösung, untersucht werden.

In Abänderung der bis hierher mit Langes Angaben konform laufenden Versuchsanordnung setzten wir den einzelnen Versuchslösungen radioaktives Jod (J^{131}) zu. Wir verwendeten nur aus Gründen der Verfügbarkeit gerade diese Strahlungssubstanz in einer chemisch absolut zu vernachlässigenden Größenordnung. Sie diente lediglich als Trägersubstanz der physikalischen Strahlungsdosis und hätte auch durch P^{32}, Na^{24} usw. ersetzt werden können. Die Anwendung dieses Isotopes in unserer Methodik machte einen Dreiwegehahn *H* erforderlich, der in einer Stellung den Durchfluß: Arterienstück—Meßcapillare *D*, in der anderen den Abfluß aus dieser Meßcapillare in das Umspülungsbad unter Abschluß des Zuflusses aus der Arterie freigab.

Nach Auffüllung des gesamten Systems mit der radioaktiv markierten Testlösung wird der Abfall a der Flüssigkeitssäule in der Meßcapillare D an der Skala M in Halbminutenintervallen abgelesen. Nach 30 min Versuchsdauer wird der Badelösung mittels geeichter Pipette 1 cm³ Flüssigkeit entnommen und in eine Embryoschale gebracht. Unmittelbar nach der Entnahme der Probe wird durch Verstellen des Dreiwegehahnes H aus der Meßcapillare D die gleichgroße Flüssigkeitsmenge in das Suspensionsbad geleitet, die dem Gesamtabfall a nach 30 min Versuchsdauer entsprach. Nach sofortigem Umrühren der Badeflüssigkeit wird dieser erneut eine Probe von 1 cm³ entnommen und gleichfalls in eine Embryoschale gebracht. Beide Proben werden bei 50° C im Brutschrank verdampft und ihre Strahlungsintensität i_1 und i_2 mit Hilfe einer Geiger-Müller-Apparatur gemessen. Aus der Differenz beider Impulszahlen wird nach der Formel $\frac{i_l \cdot 100}{i_2 - i_l}$ der Faktor f als prozentuale Aktivitätszunahme des Badewassers berechnet, der in direktem Verhältnis zu der Zunahme der Suspensionsflüssigkeit steht, d. h. *der* Flüssigkeitsmenge entspricht, die durch die Arterienwand difundiert ist. Ein Vergleich mit der an der Skala M ermittelten Flüssigkeitsmenge a gestattet nun eine recht exakte Beurteilung a) der Permeabilität der Gefäßwand für diesen untersuchten Stoff, b) der Volumensänderung des Gefäßrohres selbst.

Die Differenz aus der der Arterie „rückläufig" zugeführten Flüssigkeitsmenge a und der in das Badewasser abgegebenen Menge b (errechnet aus dem Faktor f) muß in der Arterie selbst verblieben sein. Da der Capillarenquerschnitt bekannt ist, kann diese Volumensänderung in Kubikmillimetern angegeben werden.

Als Testlösungen verwendeten wir 1. Ringer-Lösung mit Zusatz von 23,62 mg% NaJ (= 20 mg% J), 2. Ringer-Lösung mit Zusatz von 26,14 mg% KJ (= 20 mg% J), 3. Ringer-Lösung mit Zusatz von 2 mg% elementarem Jod.

Alle Lösungen waren mit J^{131} in einer durchschnittlichen Strahlungsintensität von 1 μ C/10 cm³ markiert. Parallel mit diesen Versuchen, bei denen die Testlösung in das Arterienlumen eingebracht wurde, untersuchten wir die Einwirkung dieser Lösungen mit gleicher Konzentration nach Einbringung in die Suspensionsflüssigkeit. In dieser Versuchsreihe wurde die intravasale Ringer-Lösung mit einer analogen Strahlungsstärke markiert.

Unsere vorläufigen *Ergebnisse* sind in Tab. 1 wiedergegeben. Die Zahlen sind Mittelwerte aus je 10 Versuchen (5 Schweine-, 5 Kälberarterien), rückgerechnet

Tab. 1. *Meßwerte der indirekten Analyse.* Siehe Text.

Intravasale Lösung, markiert mit J-131	Extravasale Suspensionslösung	Abfall in der Meßcapillare nach 30 min	Prozentuale Aktivitäts-Zunahme	Flüssigkeitsaustritt aus dem Gefäß		Volumen-Zunahme im Gefäß
		a	f	b	a—b	VZ
		mm	%	mm	mm	mm³
Ringer	Ringer	36	93,5	34	2	3
NaJ	Ringer	63	69,5	44	19	25
KJ	Ringer	57	71,0	41	16	21
el. Jod	Ringer	69	65,8	45	24	31
Ringer	Ringer	30	95,7	29	1	2
Ringer	NaJ	24	89,5	22	2	3
Ringer	KJ	21	90,8	19	2	3
Ringer	el. Jod	18	87,7	16	2	3

auf eine mittlere Länge des Gefäßrohres von 6 cm. Daraus ist zu ersehen, daß der absolute Wert für a (Abfall der Flüssigkeitssäule in der Meßkapillare D) nur einen sehr bedingten Schluß auf die Permeabilität der Gefäßwand zuläßt. Trotz deutlicher Zunahme von a bei den Jodlösungen treten gegenüber den gleichfalls intravasalen Ringer-Versuchen prozentual wesentlich geringere Mengen der Lösung in das Badewasser über. Umgekehrt sinken die Werte für a bei Zusatz der Testlösung zur Badeflüssigkeit deutlich ab. Diese Menge diffundiert aber fast zur Gänze durch die Gefäßwand. Die aus dem Capillarquerschnitt und dem Flüssigkeitsabfall a errechnete Volumenzunahme der Arterie VZ bewegt sich hierbei

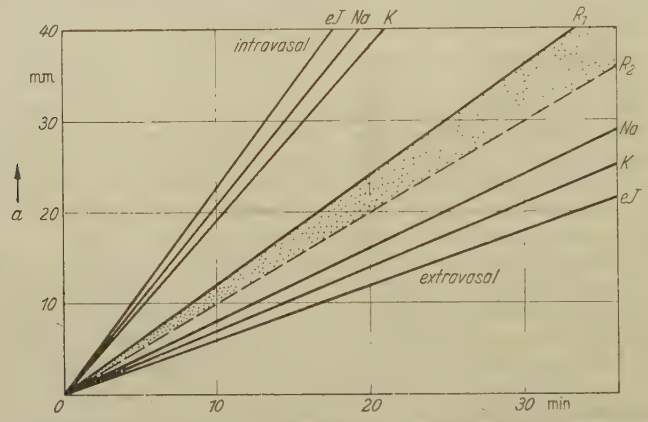


Abb. 2. Abfall des Flüssigkeitsspiegels in der Meßcapillare pro Zeiteinheit bei Füllung des Arterienrohres mit Ringer-Lösung und Ringer-Badewasser (R_1) zu Beginn des Versuches und am Ende der Versuchsserie (R_2) sowie bei intravasaler Applikation der Testlösungen von NaJ (Na), KJ(K) und elementarem Jod (eJ) und nach Zugabe der Lösungen in das Badewasser (extravasal).

zwischen 2 und 3 mm³, was in Hinblick auf die methodischen Fehlerquellen zu vernachlässigende Größen und sicherlich mit Recht gleich Null zu setzen sind. Diese Werte wurden daher in unserer Tabelle in Klammern gesetzt.

Wir sind uns bewußt, daß eine Versuchsserie von insgesamt nur 10 Präparaten zur Beurteilung der Jodwirkung zahlenmäßig zu klein ist. Wir bringen die Ergebnisse, die in dieser Fragestellung noch weiterer Untersuchungen bedürfen, nur als Beispiel für die Methodik.

Stellen wir unsere Ergebnisse kurvenmäßig dar (Abb. 2), so fällt aber trotzdem die Divergenz zweier Gruppen von Kurvenscharen auf: die der intra- und extravasalen. Zwischen beiden scheint der Nur-Ringer-Versuch zu liegen. Ohne auf die Ergebnisse der verschiedenen verwendeten Jodsalze eingehen zu wollen, erkennt man aber, daß es für die Gefäßwirkung dieses Halogens in dieser Versuchsanordnung von Bedeutung zu sein scheint, ob das Jod intra- oder extravasal appliziert wird. Dies kommt besonders deutlich in Abb. 3 zum Ausdruck, in der kolonnenmäßigen Darstellung des Faktors f als Maß für die prozentuale Zunahme der Aktivität des Badewassers. Wie wir sehen, ist dieser Faktor mengenmäßig einer Volumenzunahme der Badeflüssigkeit gleichzusetzen.

Daß unsere Ergebnisse nicht nur methodisch bedingt sind, konnten wir durch Kontrollversuche am durchströmten Gefäßapparat zeigen: durchströmt man das Läwen-Trendelenburgsche Froschpräparat[4, 14] mit den verschiedenen Jodsalz-Lösungen gleicher Konzentration wie oben angegeben, so tritt auch hierbei eine

Zunahme der Tropfenzahl — automatisch registriert nach der Methode von STRAUB[1] — auf. Die Zunahme liegt bei etwa 20 Tropfen pro 30 min Versuchsdauer. Markanter werden die Unterschiede bei der Durchströmung des Warmblüter-Präpa-

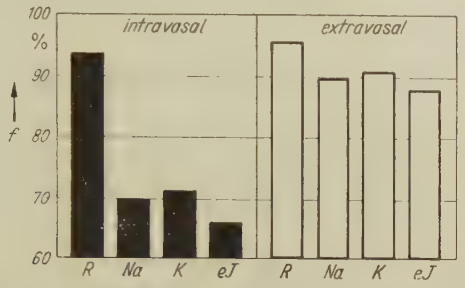


Abb. 8. Prozentuale Aktivitätszunahme des Badewassers (Faktor *f*) bei intra- und extravasale Zugabe der Testlösungen (*Na:* NaJ; *K:* KJ; *eJ:* elementares Jod; *R* RINGER-Lösung) zur Warmblüter-RINGER-Lösung.

rates (Kaninchenohr) in der Anordnung von KRAWKOW und PISSEMSKI[10]. Hier betragen sie zwischen 78 und 96 Tropfen gegenüber der RINGER-Durchströmung.

Besprechung der Ergebnisse.

Eine wesentliche Voraussetzung für verwertbare Ergebnisse ist das „dichte" Gefäßrohr. Wir halten es für nahezu unmöglich, das erforderliche Gefäßstück bereits in situ mit einer für die Methodik unbedingt zu fordernden Genauigkeit abdichten zu können, wie dies LANGE[5] angibt. Bei Verwendung von Schweine- oder Kälberarterien halten wir auch das Befestigen des noch im Tierkörper befindlichen Gefäßes an die Halterung der Capillaren für unvorteilhaft im Hinblick auf die Notwendigkeit, diese Manipulationen im Schlachthausbetrieb durchführen zu müssen. Nach unseren Erfahrungen ist die Sicherheit für die „Dichte" des Gefäßrohres nur durch das Abtupfen der fix montierten Arterie nach Füllung des Lumens mit Farbstoff gewährleistet, und das ist nur im Laboratorium möglich. Die zerrungsfreie Entnahme des Gefäßes ist auch durch sorgfältiges Freipräparieren der Arterie in situ *vor* Durchtrennung der Arterie möglich und zeitlich eher mit den begreiflichen Erfordernissen des Schlachthauses vereinbar. Die anschließende sofortige Verarbeitung des entnommenen Gefäßstückes im Laboratorium ist jedoch unbedingt zu fordern. Unsere Modifizierung durch radioaktive Markierung besitzt gegenüber der Farbstoffmethode nach ZETTLER[15] einen wesentlichen Vorteil. Die oft unvermeidbaren Trübungen der Suspensionsflüssigkeit machen eine exakte colorimetrische Auswertung oft unmöglich, wie ZETTLER selbst angibt. Natürlich besteht auch in unserer Versuchsanordnung ein Strahlungsverlust durch Selbstabsorption, Aufnahme von Aktivität durch das Arterienstück selbst, durch die Wandungen der Tröge

usw. Dies ist aber ein absoluter Verlust, den wir durch Anwendung einer „indirekten Analyse" — ähnlich der chemischen — nach Möglichkeit auszuschalten versuchten. Die Relativwerte vor und nach der Flüssigkeitsverdünnung, d. h. in unserem Falle: Aktivitätskonzentrierung, liefern daher brauchbare Ergebnisse. Es bedarf keines besonderen Hinweises, daß bei dem Arbeiten in dieser Versuchsanordnung die Regeln strengster „Strahlungs-Asepsis" zu wahren sind. Dies gilt besonders für das Durchspülen zwischen den einzelnen Versuchen. Gründliches Abspülen, auch der Außenwandungen von Glasgefäßen und Arterie, ist unbedingt erforderlich. Diese Reinigung wird wesentlich durch unseren Dreiwegehahn *H* erleichtert. Im Hinblick auf die geringe Zahl unserer Versuche können wir auf eine wissenschaftliche Beurteilung der speziellen Jodwirkung auf das Gefäß nicht näher eingehen. Sicher aber können wir eine intravasale Wirkung des Jodes von einer extravasalen trennen und damit die Angaben von Lange, zumindest für die Jodwirkung nicht bestätigen, der eine Gleichartigkeit der Meßergebnisse in beiden Versuchsanordnungen fand. Zettler wies in seiner Arbeit bereits darauf hin, daß gewisse Substanzen intravasal „besser wirken" als nach Zugabe zur Badeflüssigkeit. Ob es nur ein „besser wirken" ist, möchten wir zunächst bezweifeln. Eine gewisse Deutungsmöglichkeit unserer Ergebnisse glauben wir aber in den kreislaufdynamischen Untersuchungen von Lauda[8] und Häusler u. Siedek[2] sowie eigenen Versuchen[3] einerseits und den pharmakologischen Experimenten Schades[12] andererseits zu erblicken. Lauda[8] und Häusler u. Siedek[2] erklärten die Ergebnisse ihrer Untersuchungen nach Jodbehandlung von Hypertonikern mit einer Erschlaffung des Gefäßes, was auch wir im Resorptionstest bei peripheren Kreislaufstörungen nachweisen konnten[3]. Unsere jetzigen Ergebnisse bei intravasaler Applikation der Jodsalz-Lösungen zeigen gleichfalls eine Volumenzunahme des Gefäßes. Schade[12] führt die Jodwirkung auf eine Quellung des Bindegewebes zurück. Diese Ansicht könnte unsere Befunde bei extravasaler Gabe von Jod erklären: wenn wir annehmen dürfen, daß diese Quellung bereits in jener Phase unseres Vorversuches eintritt, in der wir die Stabilisierung der Flüssigkeitsabnahme in der Meßcapillare abwarteten, so sind die geringen Senkungswerte im anschließenden Hauptversuch zu verstehen, ohne daß es zu einer Volumenszunahme des Gefäßlumens selbst kommt. (Die errechnete Volumenzunahme von 2—3 mm Wassersäule dürfen wir sicher zu Recht in die Fehlergrenze der Methodik rechnen.) Sicherlich wirken in unserer Versuchsanordnung beide Komponenten letzten Endes gemeinsam. Aber vielleicht liegt in dieser mehr oder minder nach der einen oder anderen Seite hin verschobenen Wechselwirkung wenigstens zum Teil der Gegensatz der in der Literatur veröffentlichten Meinungen über die Wirkung des Jodes auf das Gefäßsystem begründet.

Zusammenfassung.

1. Es wird über eine neue Methode zur Bestimmung der Permeabilität und Volumensänderung der isolierten Arterie berichtet. Dabei wird die von Lange u. Mitarb. angegebene und von Zettler modifizierte Methode durch Einbeziehung einer indirekten Analyse mittels radioaktiv markierter Testlösungen erweitert. Die Abänderung der Apparatur wird beschrieben.

2. An Hand von Versuchen mit radioaktiv markierten, verschiedenen Jodlösungen wird die Methode demonstriert und die Ergebnisse der verschiedenartigen Wirkung dieser Substanzen bei intra- und extravasaler Applikation besprochen.

Literatur.

[1] Bürgi, S.: Helvet. Physiol. Acta **1**, C. 3, (1943). — [2] Häusler, H. Ph., H. Siedek: Cardiologia (im Druck). — [3] Hofmann-Credner, D., u. H. Siedek: Z. Kreislaufforschg. (im Druck). — [4] Läwen, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **51**, 415 (1904). — [5] Lange, F., u. J. Donomae: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **175**, 176 u. 416 (1934). — [6] Lange, F., u. J. Donomae: Münch. med. Wschr. **1934**, 14. — [7] Lange, F., u. M. Sebastian: Z. Kreislaufforschg. **27**, 7 (1 35). — [8] Lauda, E.: Vortrag am II. Bäderkongreß Bad Hall; Wien. med. Wschr. 102 (1952). — [9] Meyer, O. B.: Z. Biol. **48**, 352 (1906). — [10] Pissemski, S. A.: Pflügers Arch. **156**, 426 (1914). — [11] Rothlin, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **176**, 635 (1934). — [12] Schade, E.: Physiol. Chemie i. d. Inn. Med. Dresden 1923. — [13] Straub, W.: zit. Ther, L., Pharmakologische Methoden Stuttgart: Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft 1949. — [14] Trendelenburg, X. P.: Arch. **63**, 161 (1910). — [15] Zettler, L.: Arch. **185**, 141 (1937).

Dr. D. Hofmann-Credner, I. Med. Univ.-Klinik, Wien IX, Lazarettgasse 14.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 382—398 (1953).

Aus der I. Medizinischen Abteilung (Chefarzt: Prof. Dr. Bansi)
und dem Chemisch-physiologischen Institut (Leiter: Dr. Fretwurst)
des Allgemeinen Krankenhauses St. Georg in Hamburg.

Untersuchungen über den Glucuronsäure-Stoffwechsel beim Menschen nach peroraler und intravenöser Zufuhr.

Von
F. Fretwurst und H. A. Ahlhelm.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Juli 1952.)

Die Glucuronsäure ist durch die in den Jahren 1947 und 1949 veröffentlichten Arbeiten von Petermann und von Hodas, Brandon und Maloney in den Kreis der Diskussion um neue Wege der Rheumabehandlung gezogen worden. Sie besitzt neben ihrer seit langem bekannten Funktion als Kupplungsfaktor zur Entgiftung von Alkoholen, Phenolen und Säuren größte Bedeutung als Baustein der Mucopolysaccharide, zu denen die Chondroitinschwefelsäure der Knorpelsubstanz, die Mucoitinschwefelsäure des Magenschleims, das in der Leber gebildete natürliche Antikoagulans Heparin und die Hyaluronsäure gehören. Vornehmlich der aus äquimolekularen Mengen von Glucuronsäure und N-Acetyl-D-glucosamin aufgebauten Hyaluronsäure gilt in bezug auf die rheumatischen Erkrankungen besonderes Interesse, da sie für die Zusammensetzung der als Gleitmittel wirkenden Synovia eine bedeutsame Rolle spielt. Ragan und Meyer zogen aus vergleichenden Untersuchungen der Kniegelenkssynovia von Polyarthritikern und Gesunden den Schluß, daß die bei Polyarthritis festzustellenden Veränderungen nicht auf einer enzymatischen Hydrolyse oder einer nichtspezifischen Depolymerisation, sondern auf einer *anomalen Synthese* und einer erhöhten Bildung unvollständig polymerisierter Hyaluronsäure beruhen.

Die Mitwirkung bei Entgiftungsvorgängen und beim Aufbau der Mucopolysaccharide räumt der Glucuronsäure eine auffallende Doppelstellung im Gesamtstoffwechsel ein, die aber hinsichtlich ihrer therapeutischen Ausnutzung dadurch eingeschränkt wird, daß die Glucuronsäure nur *eines* der Bauelemente der Glykoproteide darstellt.

Unsere Untersuchungen sollen zur Klärung der Frage beitragen, wie sich peroral oder intravenös zugeführte Glucoronsäure bezüglich ihrer Ansammlung im Blut und der Wiederausscheidung im Harn bei Gesunden, bei Patienten mit rheumatischen Gelenkerkrankungen und bei solchen mit Leberparenchymschäden verhält, da unseres Wissens bisher keine bilanzmäßigen Untersuchungen dieser Art bei Menschen vorgenommen worden sind. Auch wirkte der Wunsch mit, die von einigen Autoren beobachtete therapeutische Wirksamkeit der Glucuronsäure bei Arthritis nachzuprüfen.

Über die im menschlichen Urin als Produkt des normalen Stoffwechsels erscheinende Glucuronsäure finden sich in der Literatur Zahlenangaben, die zwischen

65 bis 456 mg im 24-Std-Harn schwanken. Bei Kranken wurde oft eine vermehrte, gelegentlich eine verminderte Ausscheidung von Glucuronsäure beobachtet. Die neuesten Befunde von FISHMAN und Mitarbeitern bei verschiedenen Krankheitsgruppen bewegen sich zwischen 230 bis 830 mg pro die.

Der Glucuronsäuregehalt des Vollblutes liegt, wie aus den in der Literatur mitgeteilten Werten bei gesunden und kranken Menschen hervorgeht, höher als der des Serums oder Plasmas. Die Schwankungsbreiten in beiden sind recht erheblich. DEICHMANN und DIERKER fanden im Serum oder Plasma 0,4 bis 2,5 mg%, RATISH und BULLOWA im Vollblut gesunder Personen 5 bis 9 (im Durchschnitt 7,5 mg%) Glucuronsäure. In der Spinalflüssigkeit wurden von den letztgenannten Autoren Glucuronsäurewerte von 0,5 bis 2,6 mg%, in der Pleuralflüssigkeit solche von 7,0 bis 18,0 mg% ermittelt. FISHMAN und Mitarbeiter stellten fest, daß der Glucoronsäuregehalt des menschlichen Blutes in der Mehrzahl der Fälle um einen Mittelwert von 6 mg% zwischen 4 bis 8 mg% schwankt, während LAING und ANDERSON 2,3 bis 6,6 (im Mittel 4,0 mg%) fanden. Diese unterschiedlichen Befunde sind möglicherweise methodisch bedingt.

Der Ursprung der Glucuronsäure im Körper ist bis heute trotz zahlreicher Arbeiten nicht geklärt. Während ältere Autoren eine direkte Bildung der Glucuronsäure aus Glucose für möglich halten, ist nach Ansicht der meisten späteren Untersucher das Glykogen — besonders das der Leber — in irgendeiner Weise an der Entstehung der Glucuronsäure beteiligt. Schon nach den grundlegenden Arbeiten von QUICK war es sehr wahrscheinlich, daß die Glucuronsäure beim normal ernährten Säugetier aus dem Glykogenvorrat des Körpers gebildet wird. Während nämlich bei diesen Tieren nach Zufuhr von Borneol oder Natriumbenzoat keine Steigerung der Stickstoffausscheidung zu beobachten war, fand sich bei hungernden Tieren, deren Glykogenvorräte erschöpft waren, bei Benzoesäurefütterung trotz ausreichender Glucosegaben eine vermehrte Stickstoffausfuhr. QUICK schloß hieraus, daß sich der Organismus im Hungerzustand eher des Eiweißes oder bestimmter Aminosäuren zur Bildung der Glucuronsäure bedient als der Glucose. Auch aus seinen Versuchen an depankreatisierten Hunden, die nach Injektion von Insulin und anhaltender Fütterung mit glucuronosidbildenden Drogen eine verstärkte Ausscheidung der Glucoronsäure zeigten, kam der Autor zu der gleichen Folgerung.

Ein direkter Hinweis für die Herkunft der Glucuronsäure aus dem Leberglykogen findet sich in der Arbeit von DZIETWIATKOWSKI und LEWIS. Diese Forscher fanden bei jungen, gut ernährten Ratten 4 Std nach peroraler Gabe von Natrium-tert.-butylacetat oder Menthol, daß sich der Glykogengehalt der Leber im Vergleich zu Kontrolltieren deutlich vermindert hatte. Auch die Versuche, die F. SCHMID mit normalen und überwinterten Fröschen anstellte, lassen sich vielleicht in dieser Richtung deuten.

Neuere Untersuchungen von MOOSBACH und KING, die mit ^{14}C-markierter Glucose an Meerschweinchen bei gleichzeitiger Borneolfütterung arbeiteten und Bornylglucuronosid wiedergewinnen konnten, das ^{14}C gleichmäßig über alle sechs C-Atome verteilt enthielt, sprechen wieder für die Möglichkeit eines direkten Überganges der Glucose in Glucuronsäure, wobei jedoch die Frage, ob hierfür eine — wenn auch nur vorübergehende — Fixierung der zugeführten Glucose als Glykogen notwendig ist, offenbleibt. Es ist auch nicht geklärt, ob die Glucose dabei etwa zunächst in 3-C-Verbindungen zerfällt, eine Anschauung, die in neurerer Zeit mehrfach vertreten worden ist. Bemerkenswert hinsichtlich des Glucuronsäure- Stoffwechsels ist die Auffassung von FLASCHENTRÄGER und CAGIANUT, daß die Furan-2,5-dicarbonsäure, die sie 1937 erstmalig als normalen Harnbestandteil beim Menschen nachwiesen, als ein Zwischen- und Endprodukt des Glucuronsäureabbaues anzusehen ist.

Eigene Untersuchungen.

I. Methodik der Glucuronsäurebestimmung.

Die quantitative Bestimmung der Glucuronsäure im Blutserum und im Harn geschah mit der zuerst von C. Tollens für die quantitative Schätzung der Glucuronsäurekonzentration im Harn gebrauchten und später vielfach modifizierten Naphthoresorcin-Methode in der von R. J. Smith angegebenen Form unter Verwendung des Pulfrich-Photometers (Filter S 57) oder des Leitz-Kompensationsphotometers (Filter 570). Die Forderung Mozolowskis, daß zur Wahrung der Proportionalität von Glucuronsäurekonzentration und Extinktion die in 2 cm^3 Lösung enthaltene Glucuronsäuremenge 0,050 mg nicht überschreiten dürfe, wurde innegehalten, indem besonders bei den Belastungsversuchen die Blutserum- und Harnverdünnungen so gewählt wurden, daß in 5 cm^3 der Versuchslösung nicht mehr als 0,125 mg Glucuronsäure enthalten waren. Innerhalb dieser Grenzen folgten die gemessenen Extinktionswerte dem Lambert-Beerschen Gesetz. Es erwies sich jedoch als unbedingt erforderlich, bei jeder Versuchsreihe Standardlösungen mitlaufen zu lassen, da sich schon bei den ersten Vorversuchen herausstellte, daß der Verlauf der Eichkurve sowohl von dem Alter des Naphthoresorcinreagenz als auch von der Konzentration der Salzsäure und der Art des Erhitzens abhängig ist. Die Naphthoresorcinreaktion ist ebensowenig wie die sonst vorgeschlagenen Methoden streng spezifisch für Glucuronsäure. Da jedoch die in Frage kommenden, störenden Substanzen, wie zum Beispiel Galakturonsäure, bisher nicht als normale Blut- oder Harnbestandteile nachgewiesen werden konnten und weil in der vorliegenden Arbeit hauptsächlich Glucuronsäurebestimmungen im Blutserum und Harn nach Belastung mit hohen Glucuronsäuredosen gemacht wurden, erscheint es zulässig, die gefundenen Werte als Glucuronsäure zu definieren. Alle angegebenen Werte beziehen sich auf Glucuronsäurelacton.

Reagentien. 1. Konzentrierte Salzsäure (1,19) pro analysi. — 2. Äther, peroxydfrei. — 3. 0,2%ige Naphthoresorcinlösung. 0,40 g Naphthoresorcin (Merck) werden unter Schütteln in 200 cm^3 destillierten Wassers gelöst. Nach einstündigem Einleiten von Sauerstoff (3 bis 5 Blasen/sec) läßt man 24 Std bei Zimmertemperatur stehen und leitet nun 1 Std lang Stickstoff ein (3—5 Blasen/sec). Die Lösung wird im Eisschrank aufbewahrt. Es empfiehlt sich, sie nach etwa einer Woche frisch anzusetzen.

Glucuronsäure-Standard. 0,2000 g reinsten Glucuronsäurelactons werden im Meßkolben mit destilliertem Wasser zu 500 cm^3 gelöst. Von dieser Lösung verdünnt man im Meßkolben 10 cm^3 mit destilliertem Wasser auf 200 cm^3. 5 cm^3 der Verdünnung = 100 γ Glucuronsäure.

Vorbereitung des Blutserums. 2 cm^3 Serum werden nach dem Verdünnen mit 6 cm^3 Wasser unter gutem Durchmischen mit 1 cm^3 10%iger Natriumwolframatlösung und 1 cm^3 2/3 n-Schwefelsäure versetzt. Man schüttelt kräftig und filtriert nach einigen Minuten durch ein kleines dichtes Faltenfilter.

Vorbereitung des Harns. Normalharn wird 1:25, Harn nach Glucuronsäurebelastungen 1:100 oder 1:200 und evtl. mehr mit destilliertem Wasser verdünnt.

Bestimmung. 5 cm^3 destilliertes Wasser (Blindversuch), 5 cm^3 Vergleichsstandard (= 100 γ Glucuronsäure), 5 cm^3 Blutfiltrat (= 1 cm^3 Serum) und 5 cm^3 der Harnverdünnung werden in 2,3 cm weite und 18,5 cm hohe Glasrohre (Jenaer Glas, mit Schliffstopfen) pipettiert und aus einer Bürette mit genau 5 cm^3 konzentrierter Salzsäure und dann mit 5 cm^3 Reagenz gemischt. Man erhitzt genau 30 min in einem gerade kochenden Wasserbad, kühlt 10 min in Eiswasser und schüttelt nach Zugabe von 15 cm^3 eisgekühlten Äthers und Verschließen mit dem Glasstopfen 1 min lang kräftig durch. Das Flüssigkeitsgemisch wird dann schnell

in einen Scheidetrichter übergegossen, die wäßrige Flüssigkeit abgelassen und der Äther unter Bedeckung mit einem Uhrglas durch ein trockenes Filter in einen 20 cm³ Meßzylinder mit Schliffstopfen filtriert. Dieser wird bis zur Messung in Eiswasser aufbewahrt. Die Messung erfolgt gegen den Blindversuch im Pulfrich-Photometer (S 57) oder im Leitz-Kompensationsphotometer (Filter 570) in 1 cm-Schicht. Die Küvetten werden nach Einfüllen der Ätherlösung sofort mit Glasplättchen verschlossen, um eine Verdunstung des Äthers zu verhüten.

Berechnung.

Blutserum: $\frac{\text{E (Versuch)}}{\text{E (Standard)}} \cdot 10 = \text{mg\% Glucuronsäure}$

Harn: $\frac{\text{E (Versuch)}}{\text{E (Standard)}} \cdot 50 \text{ (bzw. 200 bzw. 400)} = \text{mg\% Glucuronsäure.}$

Bei stärkerer Verdünnung des Harns als 1:200 ist diese bei der Berechnung entsprechend zu berücksichtigen.

Versuchsergebnisse.

Für unsere Untersuchungen wurden 3 Gruppen von Versuchspersonen ausgewählt:

1. Normalpersonen,

2. Patienten mit rheumatischer Arthritis oder Arthrosis deformans, weil bei dieser Krankheitsgruppe von PETERMANN verminderte Glucuronsäureausscheidung gefunden wurde, und

3. Patienten mit Leberparenchymschädigung (Hepatitis epidemica und Lebercirrhose), da HODAS u. Mitarb. bei Ikterus eine erhöhte Glucuronsäureausscheidung festgestellt hatten.

Bei gesunden Institutsangehörigen wie auch bei anderen Normalpersonen wurden die Normalwerte der Glucuronsäureausscheidung im

Tabelle 1.

Name	Alter	mg Glucuronsäure im 24-Std-Harn				mg% Glucuronsäure im Serum
		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	
1. Mü. ♀	49 J.	365	458	342	395	3,0
2. Ku ♀	48 J.	376	362	343	305	2,6
3. Ba. ♀	28 J.	312	297	288	350	2,5
4. Tu. ♂	48 J.	677	557	578	602	2,5
5. Sch. ♀	40 J.	320	249	398	315	4,0
6. Ah. ♂	34 J.	462	557	471	411	2,8
7. Kö. ♂	31 J.	442	435	476	460	2,8
8. Le. ♀	39 J.	244	409	248	330	2,6
9. Ri. ♀	38 J.	315	346	467	381	4,2
10. Wo. ♀	18 J.	245	286	366	271	1,7
11. Ste. ♀	31 J.					1,9
12. Hei. ♀	23 J.					1,9
13. Gar. ♀	48 J.					2,8
14. Non. ♀	41 J.					2,9
15. Mü. ♀	35 J.					2,0
16. Jo. ♀	51 J.					2,8

24-Std-Harn ermittelt. Bei dem gleichen Personenkreis und weiteren gesunden Versuchspersonen wurden auch Glucuronsäurebestimmungen im Nüchternserum durchgeführt. In der Tab. 1 sind die mehrfach wiederholten Urinuntersuchungen und die Serumwerte dieser Normalpersonen zusammengefaßt.

Die gefundenen Harnwerte lagen im 24-Std-Urin zwischen 244 und 677 mg pro die und betrugen im Mittel bei Frauen 335 mg, bei Männern 488 mg pro die. Die Blutserumwerte schwankten zwischen 1,7 mg% und 4,2 mg% (Mittel 2,9 mg%). Sie liegen demnach höher als die von Deichmann u. Dierker ermittelten Werte und sind, wie bereits erwähnt,

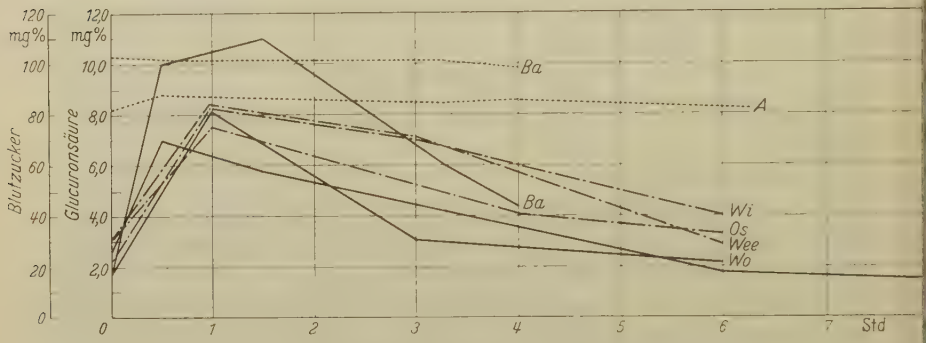


Abb. 1. Glucuronsäure im Blutserum nach peroraler Gabe von 10 g.

——— Normale ♂ *Ba* 39 J., ♀ *Wo* 18 J., ♂ *A* 34 J. - — - — - Hepatitis ♂ *Wi* 35 J., ♀ *Wee* 44 J., ♀ *Os* 29 J. ····· Blutzucker bei $\frac{Ba}{A}$

mit den im Vollblut erhaltenen Werten nicht vergleichbar, da die Blutkörperchen mehr Glucuronsäure enthalten als das Plasma oder Serum. Um die Höhe des Anstiegs der Glucuronsäurewerte im Blut wie auch im Urin nach einmaliger, peroraler Belastung festzustellen, wurden bei Gesunden und Leberkranken Belastungen mit 10 g Glucuronsäure durchgeführt. (Zu diesem Zeitpunkt fehlte es uns an geeigneten Polyarthritis- bzw. Arthrosis deformans-Patienten.)

Der Gipfel des Glucuronsäureanstieges im Serum fand sich nach 30—90 min mit 6—11 mg%, und zwar bei Normalen im Mittel um 8,6 mg%, bei Leberkranken mit einem mittleren Wert von 9,3 mg%. Bei dem in der Abbildung dargestellten über 8 Std ausgedehnten Selbstversuch (A) war 6—8 Std nach Einnahme von 10 g Glucuronsäure der Anfangswert wieder erreicht, in anderen Fällen wurde er sogar, wie wir es mehrfach beobachten konnten, etwas unterschritten. Bei zweien der Normalfälle wurden bei dieser Versuchsanordnung und bei anhaltender Nüchternheit auch die Blutzuckerwerte bestimmt. Die Glucuronsäurezufuhr ist danach, wie auch durch spätere Kontrollen bestätigt wurde, ohne Einfluß auf den Blutzuckerspiegel. Im Gegensatz zu den Serum-

befunden ergaben sich bei Normalfällen und Leberkranken bei der Untersuchung der Glucuronsäure-Ausscheidung im 24-Std-Urin nach einmaliger, peroraler Belastung mit 10 g Glucuronsäure deutliche Unterschiede.

Tab. 2 zeigt die vermehrte mittlere Ausscheidung der Glucuronsäure bei Leberkranken im Vergleich zu Normalen.

Tabelle 2.

Pat.	Alter	Eingenommen	Ausgeschieden (abzügl. Leerwert)	Ausgeschieden in % der Einnahme
Normalfälle:				
1. St.	34 J.	10 g	1,071 g	10,7%
2. He.	29 J.	10 g	0,995 g	9,9%
3. Gar.	23 J.	10 g	0,704 g	7,0%
4. Wo.	18 J.	10 g	1,201 g	12,0%
5. No.	42 J.	10 g	0,564 g	5,6%
			im Mittel:	9,0%
Hepatitis epid.:				
6. Glü.	35 J.	10 g	2,20 g	22,0%
7. Ho.	31 J.	10 g	2,38 g	23,8%
8. Or.	25 J.	10 g	1,905 g	19,1%
9. Wi.	26 J.	10 g	1,60 g	16,0%
10. Wee.	39 J.	10 g	1,007 g	10,1%
			im Mittel:	18,2%

In Tab. 3 werden die Harnbefunde bei regelmäßiger und längerdauernder, peroraler Zufuhr von Glucuronsäure bei Normalen, Gelenkkranken und Leberkranken mitgeteilt.

Tabelle 3.

Pat.	Alter	Diagnose	Eingen.	Tage	Ausgesch. (abz. Leerwert)	Ausgesch in%
1. Ba. ♂	39 J.	Normalfall	26 g	7	2,95 g	11,3%
2. Schön. ♀	19 J.	Normalfall	48 g	8	4,5 g	9,4%
3. Kö. ♂	31 J.	Normalfall*	18 g	6	2,74 g	15,2%
4. Ra. ♀	76 J.	Arthrosis def. mit entz. Komponente	108 g	27	2,35 g	2,1%
5. Gri. ♀	50 J.	Chron. Polyarthritis	67 g	22	0,26 g	0,39%
6. Mey. ♂	44 J.	Abgekl. chron. Polyarthritis	144 g	36	9,8 g	6,8%
7. Pro. ♂	34 J.	Sec. chron. Polyarthritis	84,5g	23	3,3 g	3,9%
8. Kru. ♀	28 J.	Lebercirrhose	44 g	11	10,34 g	23,5%
9. Blu. ♀	34 J.	Lebercirrhose	24 g	6	4,38 g	18,2%
10. Ke. ♀	44 J.	Lebercirrhose	48 g	21	7,03 g	14,6%
11. Gro. ♂	21 J.	Hepatitis epid.	24 g	6	4,37 g	18,1%

* Bei der Versuchsperson 3 wurden im Gegensatz zu den Fällen 1 und 2 an verschiedenen Tagen verschieden hohe Mengen an Glucuronsäure eingenommen.

Um die erheblichen Unterschiede in der Ausscheidung von Glucuronsäure bei regelmäßiger, längerdauernder, peroraler Belastung noch mehr zu veranschaulichen, bringen wir die Ausscheidungskurven von je 1 Fall aus den vorstehenden 3 Gruppen der Tab. 3 in der nachfolgenden Abb. 2.

Die Ausscheidungskurven von Normalpersonen bei längerdauernder, peroraler Belastung zeigten meistens in den ersten 4 Tagen der Belastung

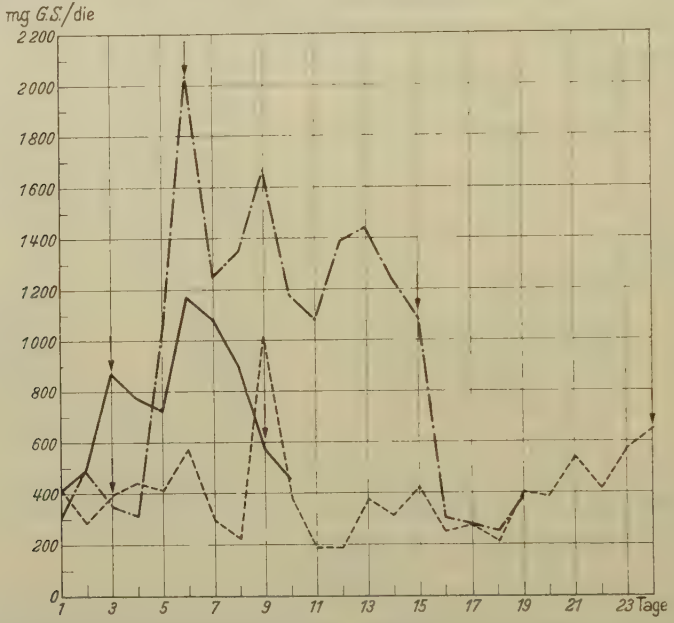


Abb. 2. Glucuronsäure-Tagesausscheidung im Urin bei längerer, peroraler Belastung mit 4 g/pro die.

Normalfall (1 Ba).
Lebercirrhose (8 Kru).
Chron. Polyarthritis (5 Gri).
(Die Pfeile zeigen Beginn u. Ende der G.S.-Zufuhr an.)

mit je 4 g Glucuronsäure die höchsten Werte der Glucuronsäureausscheidung, zum Teil bis zu 1000 mg pro die. Diese Maximalwerte wurden im weiteren Verlauf nicht mehr erreicht. Prozentual wurden dabei von Normalpersonen nach Abzug der durchschnittlichen Normalausscheidung (ohne Belastung) insgesamt 9,4—11,3% der eingenommenen Menge wieder ausgeschieden.

Untersuchungen der Glucuronsäureausscheidung bei Patienten mit Gelenkerkrankungen ohne Belastung (Leerwerte) ergaben in mehreren Fällen sehr niedrige Tageswerte, die meistens um 200 bis 250 mg pro die lagen. Bei peroraler Zufuhr von 4 g Glucuronsäure pro die über 3 bis 4 Wochen kam es bei diesen Patienten nur zu mäßigen Anstiegen der

Glucuronsäureausscheidung, die meistens gegen Ende der ersten Woche eintraten, also später als bei Normalen, und Werte von 500—700 mg pro die nur selten überschritten. Im weiteren Verlauf der Dauerbelastung sanken sie oft noch erheblich ab. Die prozentuale Ausscheidung der Glucuronsäure ergab bei diesen Patienten, soweit sie klinisch noch deutliche Krankheitszeichen wie Gehbehinderung, Gelenkschwellungen,

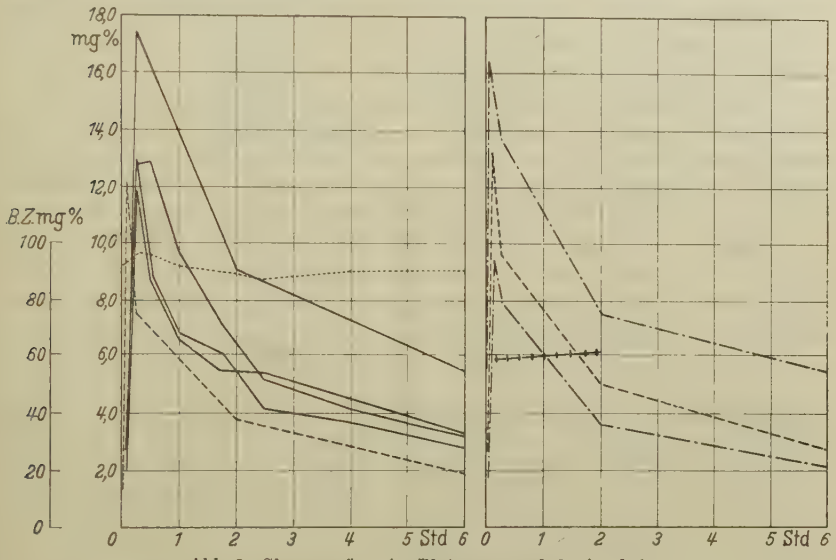


Abb. 3. Glucuronsäure im Blutserum nach 2 g i.v. bei:

——— Normalen.
– – – – – Polyarthritis.
—·—·— Hepatitis.
····· Blutzucker eines Normalen.
+++++ Alkalireserve eines Normalen (60, 59, 59, 62 Vol.% CO_2 vor und 5, 15 und 120 min nach der Injektion).

Senkungsbeschleunigung und Temperaturerhöhung aufwiesen, ungemein niedrige Werte, die sich zwischen 0,39—3,9% der eingenommenen Menge bewegten.

Dagegen fanden sich bei Leberkranken (Lebercirrhose, Hepatitis) unter 2—4 Wochen dauernder peroraler Zufuhr schon im Anfang wesentlich höhere Werte der Tagesausscheidung als bei Normalpersonen, teilweise über 2000 mg pro die, und Gesamtausscheidungen von 14,6—23,5% der Einnahme im Vergleich zu 9,4—11,3% der Normalpersonen.

In einer weiteren Versuchsreihe wurden bei den gleichen 3 Gruppen Untersuchungen des Glucuronsäureanstieges im Blutserum nach intravenöser Zufuhr von 2 g Glucuronsäure durchgeführt. In Abb. 3 werden von jeder dieser 3 Arten von Patienten mehrere Verlaufskurven der Blut-Glucuronsäurewerte dargestellt.

5 min nach der Injektion wurden von normalen Personen und auch Leberkranken Werte von 13,0 bzw. 13,3 mg% im Mittel erreicht, während die Fälle von chronischer Polyarthritis unter diesen Versuchsbedingungen 11,8 mg% als mittleren Höchstwert ergaben. Der Anfangswert wurde von einem Teil der Fälle aller 3 Gruppen nach 6 Std wieder erreicht, von einigen wurde er etwas unterschritten, während andere einen verzögerten Abfall zeigten. Eine gewisse Gesetzmäßigkeit in bezug auf die einzelnen Krankheitsarten, wie sie Fishman in seiner Arbeit schildert, ließ sich aus unseren Befunden nicht ableiten.

Parallellaufende Untersuchungen des Blutzuckers sowie der Alkalireserve, wie sie für einen Normalfall in Abb. 3 mit eingezeichnet sind, zeigten — wie auch bei anderen Kontrollfällen — die Unabhängigkeit des Blutzuckerspiegels von der Glucuronsäurezufuhr und ließen keine merkbare Beanspruchung des CO_2-Bindungsvermögens des Bluts (Alkalireserve) durch die zugeführte Glucuronsäure erkennen.

Wenn die Verlaufskurven der Glucuronsäurewerte im Blut nach intravenöser Zufuhr von 2 g Glucuronsäure bei den 3 Gruppen, abgesehen von dem ein wenig tiefer liegenden Maximalwert bei Gelenkerkrankungen, keine signifikante Abweichungen voneinander boten, was nach einer so massierten Zufuhr in die Blutbahn ja auch kaum zu erwarten war, so ließen sich bei der Betrachtung der Glucuronsäureausscheidung im Urin unter dieser Belastung wieder die schon bei langdauernder, peroraler Belastung erhaltenen Ergebnisse bestätigen.

In Tab. 4 werden als Beispiel für diese Untersuchungsgruppe die Glucuronsäureausscheidungen in den fraktioniert gesammelten Harnportionen eines Normalfalles dargestellt.

Tabelle 4.

Pat. Le., 39 J., Normalfall. 2 g Glucuronsäure intravenös, um 9 Uhr.

Zeit	Harnmenge cm³	Glucuronsäure mg
9—11 Uhr. . .	150	783
11—13.	60	245
13—15.	50	162
15—19.	105	98
19— 7.	105	26
	470 cm³	1314 mg pro die

Bei den Patienten wurden die Untersuchungen in gleicher Weise durchgeführt. In der Tab. 5 sind jedoch nur die Gesamtausscheidungen für 24 Std zusammengefaßt.

Bei allen in Tab. 5 aufgeführten Patienten setzte die Glucuronsäureausscheidung nach intravenöser Zufuhr von 2 g prompt ein und war in den ersten 2 Std-Harnportionen am stärksten. Sie ergab, für den ganzen Tag berechnet, eine prozentuale Ausscheidung der eingenommenen Menge nach Abzug des Leerwertes von 45,9—59,8% bei den Normal-

Tabelle 5.

Pat.	Alter	Diagnose	G.S.-Zufuhr	Glucuronsäure-Ausscheidung		
				mg pro die (Gesamt)	mg pro die (abz. Leerwert)	in % der zugef. Menge
1. Le. ♀. .	39 J.	Normal	2 g i.v.	1314	1015	50,7
2. Mü. ♀ .	44 J.	Normal	2 g i.v.	1275	1197	59,8
3. Ri. ♀. .	38 J.	Normal	2 g i.v.	1416	919	45,9
4. Sie. ♀. .	16 J.	Normal	2 g i.v.	1300	1000	50,0
5. Ho. ♂. .	41 J.	Normal	2 g i.v.	1427	1142	57,1
6. Mö. ♀. .	33 J.	Normal	2 g i.v.	1308	1008	50,4
7. Ih. ♀. .	46 J.	Chron. Polyarthritis und Arthr. def.	3 g i.v.	1415	1028	34,2
8. Blu. ♀ .	40 J.	Polyarthr. Schub	2 g i.v.	670	395	19,7
9. Gru. ♂ .	33 J.	Chron. Polyarthritis (abgeklung.)	2 g i.v.	1474	890	44,5
10. Her. ♂ .	35 J.	Lebercirrh.	2 g i.v.	1817	1500	75,0
11. Ju. ♂. .	21 J.	Hepatitis	2 g i.v.	1606	1306	65,3
12. Ge. ♀. .	44 J.	Hepatitis	2 g i.v.	1800	1400	70,0

fällen. Die Patienten mit einer Gelenkerkrankung zeigten wieder eine verminderte Ausscheidung im Vergleich zu den Normalen. Bei ihnen betrug sie 19,7—44,5%, während die prozentuale Ausscheidung bei Leberkranken sich zwischen 65,3—75,0% bewegte.

In einigen Fällen wurde als Versuch zur Klärung der Frage, ob die Glucuronsäure nach der Belastung in freier oder gebundener Form ausgeschieden wird, die Fehlingsche und die Nylandersche Probe angestellt, und gleichzeitig die optische Drehung des Harnes ermittelt, da die freie Glucuronsäure reduzierend wirkt und eine Rechtsdrehung zeigt, während die Glucuronoside meistens links drehen. In Tab. 6 werden 3 solcher Untersuchungsreihen angeführt.

Nach der Belastung zeigten sich in den ersten Portionen des fraktioniert gesammelten Harnes stets eine mehr oder minder starke Rechtsdrehung und positive

Tabelle 6.

Patient	G.S.-Zufuhr	Harn von	$\alpha_D^{20°}$	Fehling	Nylander
Normal	10 g per os (7 Uhr)	7–10 Uhr	+0,21°	(+) zög.	+
		10–14	+0,19°	+ zög.	(+)
		14– 7	−0,02°	?	0
Hepatitis	10 g per os (7 Uhr)	7–10 Uhr	+0,16°	(+)	++
		10–14	+0,23°	+	++
		14– 7	+0,05°	(+)	+
Chron. Polyarthritis	2 g i.v. (8 Uhr)	8–10 Uhr	−0,09°	0	0
		10–12	+0,14°	++	+
		12–14	+0,07°	(+)	+
		14–19	−0,02°	Spur?	(+)
		19– 7	+0,03°	0	0

Nylander- und Fehling-Reaktionen, wobei die letzten meistens weniger ausgeprägt waren. Die Endportionen des fraktionierten Harnes ergaben dagegen nur eine ganz geringe Rechtsdrehung oder eine schwache Linskdrehung und negative oder höchstens schwach positive Reduktionsproben. Aus diesem Verhalten darf wohl der Schluß gezogen werden, daß peroral wie auch intravenös zugeführte Glucuronsäure bei einmaliger Belastung mit hohen Dosen im wesentlichen als freie Glucuronsäure im Harn wieder ausgeschieden wird.

Um das Verhalten der Glucuronsäureausscheidung bei glucuronosidbildenden Medikamenten zu verfolgen, untersuchten wir eine Reihe von Patienten, die wegen ihrer Ischiasneuritis mit Irgapyrin oder Salicylamid behandelt wurden. Es interessierte uns dabei einerseits, ob im Verlaufe einer mehrtägigen Behandlung mit therapeutischen Dosen dieser Medikamente ein Absinken der Glucuronsäureausscheidung eintreten würde, wie es tierexperimentell z. B. bei Verabreichung massiver Dosen von Borneol beobachtet worden ist, und zweitens, ob und in welchem Umfange bei anhaltender Irgapyrin- oder Salicylamidtherapie bei Zugabe von Glucuronsäuretabletten diese exogen zugeführte Glucuronsäure bei der Glucuronosidbildung, also bei der Entgiftung, mit in Anspruch genommen werden würde. Zu diesem Zwecke wurden neben den Glucuronsäurebestimmungen wiederholt die optische Drehung der 24-Std-Harne ermittelt und die Reduktionsproben nach Fehling und Nylander angestellt. Von Pyramidon, einem Bestandteil des Irgapyrins, ist allerdings bekannt, daß es nur zu einem recht geringen Teil in 4-Oxyantipyrin, das zur Glucuronosidbildung befähigt ist, übergeht.

In der Tab. 7 werden aus dieser Patientengruppe mit Ischiasneuritis die Befunde bei einem 74jährigen Patienten aufgeführt, der mit 5 cm³ Irgapyrin intramuskulär behandelt wurde.

Tabelle 7.

Dat.	Urinmenge cm³	G.S.-Ausscheidung mg pro die	$\alpha_D^{20°}$	Fehling	Nylander	Therapie
14. 10.	1300	498	—	—	—	Irgapyrin
15. 10.	600	450	—	—	—	3× 1 Supp.
16. 10.	1300	344	—	—	—	3× 1 Supp.
17. 10.	700	239	—0,03°	—	—	3× 1 Supp.
18. 10.	1300	346	—0,06°	—	—	3× 1 Supp.
22. 10.	700	927	—0,06°	—	—	Irgapyrin
23. 10.	1015	791	—0,04°	—	—	5 cm³ i.m.
24. 10.	1200	935	—	—	—	„
25. 10.	1000	791	—0,02°	—	—	„
26. 10.	500	690	—	—	—	„
27. 10.	1000	1156	—	—	—	„
28. 10.	1100	420	—	—	—	—
29. 10.	1100	443	—0,01°	—	—	Irg. i.m.
30. 10.	1000	1147	—0,06°	0	+	Irg. u. 4 g GS.
31. 10.	1500	894	+0,03°	0	0	„
1. 11.	1200	439	—0,03°	0	Spur	Nur Irg.

Dabei ließ sich zunächst an Hand der normalen oder nur mäßig erhöhten Glucuronsäurewerte des 24 Std-Harnes feststellen, daß der Patient das in den ersten 6 Tagen in Form von Zäpfchen rektal zugeführte Irgapyrin nur unzureichend resorbiert hatte, so daß in der Folge auf die intramuskuläre Injektion zurückgegriffen werden mußte. Danach kam es zu deutlichen Anstiegen der Glucuronsäureausscheidung, die aber 1000 mg pro die nur einmal überschritten. Die Drehungswerte des Harnes blieben während der ganzen Versuchszeit praktisch unverändert. Dieser Umstand ist vielleicht so zu erklären, daß das nach Irgapyrininjektion im Harn auftretende Glucuronosid nur eine sehr geringe optische Aktivität besitzt oder überhaupt nicht dreht, wie es ENKLEWITZ für das aus Pyramidon entstehende Glucuronosid nachgewiesen hat. Aus der einmal beobachteten Drehungsumkehrung nach gleichzeitiger Glucuronsäurezufuhr kann man, wenn die festgestellten Drehungswerte auch sehr gering sind, vielleicht sogar den Schluß ziehen, daß ein Teil der ausgeschiedenen Glucuronsäure in freiem Zustand im Harn erschienen ist.

Ganz anders war das Verhalten bei einem 32jährigen Patienten, den wir aus der Zahl der mit 6 g Salicylamid pro die behandelten Fälle aufführen.

Tabelle 8.

Dat.	Urinmenge cm³	G.S.-Ausscheidung mg pro die	$\alpha_D^{20°}$	FEHLING	NYLANDER	Therapie
6. 11.	1000	3558	—0,58°	Trbg. zög.	+ zög.	6 g Salicylamid
7. 11.	690	2271	—0,55°	0	Spur.	„
8. 11.	830	1129	—0,11°	0	„	„
9. 11.	880	5010	—0,82°	0	+	Salicylamid und 4 g GS.
10. 11.	455	1398	—0,45°	0	—	„
11. 11.	1090	3010	—0,37°	0	—	„
12. 11.	1000	1457	—0,03°	0	0	—
13. 11.	988	1202	—0,03°	0	0	—

Bei der Salicylamidtherapie sind die Ausscheidungswerte der Glucuronsäure im 24 Std-Harn wesentlich höher als bei der Irgapyrintherapie, indem sie in den ersten Tagen häufig über 2000—3000 mg pro die hinausgehen. Es läßt sich aber hier bald (8. 11. in Tab. 8) ein deutliches Absinken der Glucoronsäureausscheidung feststellen, die mit einem Absinken der Polarisationswerte Hand in Hand geht. Bei der Zugabe von Glucuronsäure tritt dann anfangs eine starke Erhöhung der Glucuronsäurewerte im Harn auf, die von einer erheblichen Erhöhung der Linksdrehung begleitet ist, so daß mit aller Vorsicht geschlossen werden kann, daß die zugeführte Glucuronsäure vielleicht zur Glucuronosidbildung

mit herangezogen wird. Bemerkenswerterweise sinkt jedoch bei weiterer Glucuronsäurezufuhr die Linksdrehung wieder ab, obgleich die erhöhte Glucuronsäureausscheidung noch anhält.

Um das Verhalten der Glucuronsäureausscheidung im Harn bei gleichzeitiger oder aufeinanderfolgender Anwendung moderner antirheumatischer Mittel zu untersuchen, wählten wir einen Fall von primärer chronischer Arthritis, der nacheinander mit ACTH, Salicylamid und Irgapyrin sowie mit zusätzlichen Dosen von Glucuronsäure behandelt wurde.

Anamnese. 61jährige Frau wegen primär-chronischer Infektarthritis in stationärer Behandlung. Zuletzt im Frühjahr 1951 mit ACTH behandelt. Anfängliche Besserung, nach 14 Tagen wieder Beschwerden, besonders im rechten Hüftgelenk, dann auch wieder in den Kniegelenken, Oberarmen und Fingern. Seitdem laufend schlechter. Menopause: 36/37 Jahr, Partus: 1, Abort: 0. Appetit, Verdauung und Miktion normal.

Befund am 9. 11. 1951. Patientin in reduziertem Allgemeinzustand mit multiplen schmerzhaften Gelenkschwellungen. Lungenemphysem, Herz unauffällig, innere Organe o. B. Kopfdrehung sehr erschwert, Schmerzhaftigkeit der kleinen Halswirbelsäulengelenke, Schwellungen der Ellenbogengelenke, besonders rechts, der Handgelenke, besonders rechts. Unfähigkeit zur Abduktion, Adduktion und Faustschluß. Fingergelenkschwellungen an beiden Händen, ferner Schwellung der Kniegelenke, Schmerzhaftigkeit der Hüftgelenke, besonders rechts, und der Fußgelenke.

Abb. 4 zeigt den Therapieverlauf, die 24 Std-Ausscheidung der Glucuronsäure mit Angabe der Urinmengen (Säulen) und Polarimeterwerte.

Krankheitsverlauf. 9. 11. Senkung 31/45, bis 15. 11. verschiedene analgetische Medikamente, wie Polamidon. 16. 11. 10 g Glucuronsäure peroral, kein sicherer Effekt auf die Beschwerden.

19.—22. 11. ACTH allein. Am 20. 11. Nachlassen der Schmerzen, Beweglichkeit der Kniegelenke und Hände gebessert. 22. 11. noch besser, allgemeine bessere Beweglichkeit, kann aufsitzen; wegen der verringerten Harnportionen tägliche Gewichtskontrollen. 56,9 kg. 23.—28. 11. ACTH und 4 g Glucuronsäure pro die. Am 24. 11. Senkung mit 9/23 deutlich gebessert. Weiterhin bessere Beweglichkeit, Gewicht 57,5 kg. Urinausscheidung etwas höher als an den Vortagen. 27. 11. 57,2 kg, 28. 11. 57,4 kg.

29. 11. Kein ACTH, leichte Schmerzen in rechter Hüfte, nur 4 g Glucuronsäure.

30. 11. Stärkere Hüftschmerzen, kann schlechter aus dem Bett, Gewicht vermindert: 56,2 kg. Diurese hat wieder zugenommen. 2. 12. Sehr starke Schmerzen in der re. Hüfte, Beweglichkeit ebenfalls verschlechtert, Gewicht 55,8 kg.

4. 12. Keine medikamentöse Therapie, subjektiv etwas besser (!). 5.—9. 12. Täglich 6 g Salicylamid peroral. 7. 12. noch starke Schmerzen in der re. Hüfte, daher zusätzlich Schwefelbad und Massage, 8. 12. Beweglichkeit etwas besser. 10.—14. 12. Täglich außer Salicylamid 4 g Glucuronsäure. 13. und 14. etwas gebessert, nur nachts stärkere Beschwerden. 15. und 16. 12. nur 4 g Glucuronsäure. Zustand unverändert. 17.—19. 12. 5 cm^3 Irgapyrin i.m. und 4 g Glucuronsäure. 20. 12. Keine Medikamente.

Die Patientin zeigte in den ersten Tagen etwas erhöhte Glucuronsäurewerte im Harn, die möglicherweise auf glucuronosidbildende Analgetica zurückzuführen sind.

Bei einmaliger peroraler Belastung mit 10 g Glucuronsäure zeigte die Patientin die gegenüber der Norm verminderte Wiederausscheidung der Glucuronsäure bei Arthritisfällen. Sie betrug hier 5% der eingenommenen Menge.

Die ACTH-Therapie ging mit einer deutlichen klinischen Besserung einher. Die Patientin nahm in dieser Zeit an Gewicht zu, während nach

Abb. 4.

Absetzen des ACTH eine vermehrte Diurese und eine Gewichtsabnahme auftrat. Es handelte sich also um eine deutliche Wasserretention, wie sie von Conn u. Mitarb. besonders für den Beginn der Therapie mit ACTH und 17-Oxycorticosteron beschrieben worden ist. Nach Absetzen des ACTH trat sofort wieder eine klinische Verschlechterung ein, wobei die Glucuronsäureausscheidung etwas absank. Diese betrug in der ACTH-Glucuronsäureperiode 7,4%, danach 5,9% der Einnahme.

Sowohl nach der einmaligen Gabe von 10 g Glucuronsäure wie auch nach der fortgesetzten Zufuhr von 4 g pro die schlug die anfänglich festgestellte Linksdrehung der 24 Std-Harne in eine Rechtsdrehung um oder sank erheblich ab, so daß daraus möglicherweise auf eine Ausscheidung von freier Glucuronsäure geschlossen werden kann. Nach Salicylamidzufuhr nahm die Linksdrehung der Harne erheblich zu und hielt sich auch bei Zugabe von Glucuronsäure in etwa der gleichen Höhe. Auf eine Verwertung der zugeführten Glucuronsäure kann daher nicht geschlossen werden.

Bei 2 weiteren Patienten mit Arthritis (akuter Polyarthritis und primär chronischer Infektarthritis) wurde ebenfalls die Glucuronsäureausscheidung unter reiner ACTH-Therapie und anschließend unter Zugabe von Glucuronsäure und Salicylamid untersucht.

Ein 56jähriger Mann (Ha.) war wegen seiner chronischen Infektarthritis schon mehrfach im Krankenhaus gewesen. Ein zweiter 37jähriger Mann (Kle.) hatte nach einer Angina im Dezember 1951 erstmalig einen schweren polyarthritischen Schub bekommen. Unter reiner ACTH-Therapie, die bei beiden Pat. zu einer deutlichen Besserung ihrer Beschwerden führte, wurden bei Kle. normale Glucuronsäure-Werte im Urin gefunden (um 350—400 mg pro die), während sie bei Ha. bis zu 641 mg pro die anstiegen. Eine Verminderung der 24 Std-Harnmenge, wie sie bei der Pat. De. beobachtet wurde, trat bei diesen Pat. nicht auf. Irgendeine Gesetzmäßigkeit bezüglich der Diurese und der Ausscheidung von Glucuronsäure nach Verabfolgung von ACTH ließ sich bei unseren drei Fällen also nicht beobachten.

Besprechung der Ergebnisse.

Eine therapeutische Wirksamkeit der Glucuronsäure bei Patienten mit Leberparenchymschäden und vor allem bei Patienten mit Gelenkerkrankungen (Polyarthritis und Arthrosis deformans) war in keinem der zahlreichen mit Glucuronsäure behandelten Fälle in Form eindeutiger, klinisch objektivierbarer Besserung zu erzielen.

Im Gegensatz zu amerikanischen Untersuchern konnten wir auch bei keinem unserer Patienten mit Gelenkleiden auch nur eine subjektive Besserung beobachten. Die objektiven klinischen Erscheinungen wie Temperaturen, schmerzhafte Gelenkschwellungen und Blutsenkungsbeschleunigung blieben unverändert. Bei einem der Polyarthritisfälle, der unter der kombinierten intravenösen und peroralen Zufuhr stand, kam es sogar zu einer Verschlechterung des Zustandes*.

Wir waren allerdings nicht in der Lage, die von amerikanischen Autoren befürwortete, sich über viele Monate erstreckende Glucuronsäure-Therapie bei unseren Krankenhauspat. durchzuführen, und halten es auch für unwahrscheinlich, daß bei den hiesigen Verhältnissen eine solche Dauerbehandlung, bei der deutliche Erfolge erzielt worden sein sollen, zu verwirklichen ist.

Auch eine Unterstützung oder Prolongierung der therapeutischen ACTH-Erfolge ließ sich durch Zugabe von Glucuronsäure bei der ACTH-

* *Anmerkung bei der Korrektur.* Südhof berichtet in seinen Arbeiten [Z. Rheumaforschg. **11**, 88 u. 361 (1952)], die uns erst nach Abschluß unserer eigenen Untersuchungen bekannt wurden, über ähnliche Ergebnisse.

Behandlung nicht erreichen, so daß vermutlich der Wirkungsmechanismus der ACTH-Therapie, in derem Mittelpunkt die Nebenniere steht, mit dem Vorgang der Glucuronsäurebildung und -ausscheidung keine direkten Berührungspunkte hat.

Diesen therapeutischen Mißerfolgen steht die bei verschiedenartigen Versuchsanordnungen reproduzierbare Feststellung gegenüber, daß die Glucuronsäure bei einmaliger (10 g) und auch langdauernder (4 g pro die) peroraler, sowie bei intravenöser Zufuhr von Patienten mit chronischer Polyarthritis und Arthrosis deformans mit entzündlicher Komponente im Vergleich zu Normalen vermindert ausgeschieden wird, während bei Patienten mit Leberparenchymschäden (Hepatitis, Cirrhose) eine deutlich erhöhte Ausscheidung der Glucuronsäure beobachtet wurde.

Zusammenfassung.

Die Glucuronsäureausscheidung im Harn betrug nach unseren Untersuchungen bei Normalen 244—677 mg pro die, im Mittel bei Männern 488 mg, bei Frauen 335 mg. Bei Leberkranken fanden sich normale bis leicht erhöhte Werte, bei Gelenkkranken normale bis leicht herabgesetzte Werte.

Blutserum von Normalpersonen enthielt 1,7—4,2 mg% Glucuronsäure. Bei Leber- und Gelenkkranken wurden keine deutlichen Abweichungen von der Norm festgestellt.

Bei einmaliger peroraler Belastung mit 10 g Glucuronsäure wurden nach Abzug der Leerwerte von Normalpersonen im Mittel 9%, von Leberkranken 18,2% innerhalb 24 Std wieder ausgeschieden.

Bei längerdauernder täglicher Belastung mit je 4 g Glucuronsäure per os wurden nach Abzug der Leerwerte bei Normalen 9,4—11,3%, bei Leberkranken 14,6—23,5% und bei Gelenkkranken 0,39—3,9% im Harn wiedergefunden.

Bei einmaliger intravenöser Zufuhr von 2 g Glucuronsäure schieden Normale 45,9—59,8%, Leberkranke 65,3—75,0% und Gelenkkranke 19,7—44,5% der injizierten Menge im Harn wieder aus.

Der Gipfel des Glucuronsäureanstieges im Blutserum fand sich bei peroraler Belastung mit 10 g Glucuronsäure nach 60—90 min. Er lag bei Normalen im Mittel bei 8,6 mg%, bei Leberkranken im Mittel bei 9,3 mg%.

Bei intravenöser Zufuhr von 2 g Glucuronsäure fanden sich nach 5—15 min Serumhöchstwerte von im Mittel 13,3 mg% bei Normalen, 13,0 mg% bei Leberkranken und 11,8 mg% Glucuronsäure bei Gelenkkranken.

Therapeutische Erfolge ließen sich an Patienten mit Gelenkleiden sowohl bei längerer, über Wochen dauernder, täglicher peroraler Zufuhr

von 4 g Glucuronsäure wie auch bei tagelanger, maximaler Zufuhr von 2 g Glucuronsäure intravenös und 5 g peroral klinisch nicht objektivieren.

Bei einer kleinen Anzahl von ACTH-behandelten Patienten mit Gelenkleiden konnten bei gleichzeitiger und anschließender Zufuhr von Glucuronsäure die unter alleiniger ACTH-Therapie erreichten Besserungen weder verstärkt noch verlängert werden.

Wir danken auch an dieser Stelle Herrn Dr. Meyer, Direktor der Deutschen Maizena-Werke, für die Überlassung von Glucuronsäure-Lacton und die Hergabe von Mitteln zur Durchführung der Untersuchungen, Herrn Prof. Dr. Heyns für vielfache Anregungen und Unterstützungen und Herrn Prof. Dr. Hesse für die bereitwillige Überlassung von Patienten seiner Abteilung.

Literatur.

Cammidge, P. J.: Proc. Roy. Soc. London **81**, 372 (1909). — Conn u. Mitarb.: Science **113**, 731 (1951). — Deichmann, W. B., u. G. Thomas: J. Ind. Hyg. Toxicol. **25**, 286 (1943). — Deichmann, W. B., u. M. Dierker: J. of Biol. Chem. **163**, 753 (1946). — Dzietwiatkowski, D. D., u. H. B. Lewis: J. of Biol. Chem. **153**, 49 (1944). — Enklewitz, M.: J. of Pharmacol. **54**, 100 (1935). — Fishman, W. H., M. Smith, D. B. Thompson, C. D. Bonner, S. C. Kasdon u. F. Homburger: J. Clin. Invest. **7**, 685 (1951). — Flaschenträger, B., B. Cagianut u. F. Meier: Helvet. Chim. Acta **28**, 1489 (1945). — Ganapathi, K.: Current Science **19**, 381 (1950); ref. Chem. Zbl. **1951**, II, 2481. — Halberkann, J., u. F. Fretwurst: Hoppe-Seylers Z. **285**, 97 (1950). — Hodas, J. H., H. Brandon u. J. F. Maloney: Lancet **69**, 385 (1949). — Jaffe, M.: Z. physiol. Chem. **2**, 47 (1878/79). — Laing, G. H., u. D. Anderson: Abstr. Americ. Chem. Soc., Div. of Biol. Chem. 1950, 610. — Lipschitz, W. L., u. E. Bueding: J. of Biol. Chem. **129**, 333 (1939). — Loewi, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **47**, 56 (1901). — Maughan, G. B., K. A. Evelyn u. J. S. L. Browne: J. of Biol. Chem. **126**, 567 (1938). — Mayer, P., u. C. Neuberg: Z. physiol. Chem. **39**, 236 (1900). — Mayer, P.: Z. klin. Med. **47**, 68 (1902). — Miller, C. O., u. Mitarb.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **30**, 630 (1933). — Mosbach, E. H., u. C. G. King: J. of Biol. Chem. **185**, 491 (1950). — Mozolowski, W.: Biochemic. J. **34**, 823 (1940). — Petermann, E. A.: Lancet **67**, 451 (1947). — Quick, A. J.: J. of Biol. Chem. **70**, 59 (1926); **70**, 397 (1926); **80**, 535 (1928). — Ragan, C., u. K. Meyer: J. Clin. Invest. **28**, 56 (1949). — Ratish, H. D., u. J. G. M. Bullowa: Arch. Biochem. **2**, 381 (1943). — Schmidt, W.: Ann. **93**, 83 (1855). — Schmid, F.: Soc. Biol. Paris **123**, 223 (1936). — Schmiedeberg, O., u. H. Meyer: Z. physiol. Chem. **3**, 422 (1879). — Smith, R. J.: Priv. Mitteil., zit. nach N. E. Artz u. E. M. Osman: The Biochemistry of Glucuronic Acid, Contrib. from the George M. Moffet Research Labor., Corn Products Ref. Coy. — Sundwik, E.: Abhandl. Helsingfors 1886; ref. Jahresber. d. Tierchem. **16**, 76 (1886). — Tollens, C.: Hoppe-Seylers Z. **61**, 95 (1909). — Tollens, C., u. F. Stern: Z. physiol. Chem. **64**, 39 (1910).

Dr. F. Fretwurst, Chemisch-physiologisches Institut des Allgemeinen Krankenhauses St. Georg, Hamburg.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 399—400 (1953).

Aus dem Physiologischen Institut Tübingen.

Ein neuer Pulsabnehmer für Kleintiere.

Von
K. Brecht und H. Boucke.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 15. September 1952.)

Das Problem der Pulsregistrierung an kleineren Laboratoriumstieren ist mit den bisher bekannten Methoden nur sehr schwer oder überhaupt nicht zu lösen. So schreibt z. B. v. Muralt[1]: „Für das Laboratoriumstier, z. B. die Ratte, dürfte es ein Ding der Unmöglichkeit sein, etwa Puls oder Spitzenstoß störungsfrei abzunehmen." Er hat die Schwierigkeiten der Pulsfrequenzzählung an der Ratte (Bradycardietest zum Nachweis von Aneurin) durch einen elektrischen Pulszähler überwunden, bei dem die R-Zacke des Elektrokardiogramms verstärkt wird und ein Zählwerk steuert. Aber auch diese an sich elegante Methode ist noch sehr störungsempfindlich, da schon geringe Muskelbewegungen sich bemerkbar machen.

Wir haben nun vor kurzem ein neues Verfahren der Pulsregistrierung am Menschen beschrieben[2, 3, 4]. Durch ein neuartiges, kleines, elastisches Kondensatormikrophon (Kondensatorwickel mit präparierten Folien), das sich sehr einfach und schnell an beliebigen zur Pulsabnahme geeigneten Stellen des Körpers befestigen läßt, können zentrale und periphere Arterienpulse (Subclavia, Carotis, Femoralis, Temporalis, Radialis, Daumen, Zehen usw.) und in spezieller Ausführung des Mikrophons auch Venenpulse mühelos abgenommen werden. Dieses Verfahren läßt sich nun auch an Laboratoriumstieren mit Erfolg verwenden (z. B. Arterienpuls des Kaninchenohres, Atmung des Kaninchens).

Für kleinere Laboratoriumstiere müßten die Dimensionen des Mikrophons noch weiter verkleinert werden. Diese Verkleinerung läßt sich allerdings nicht beliebig weit treiben. Sie ist aber bis jetzt so weit möglich, daß man Arterienpulse vom Schwanz der Ratte registrieren kann.

In dieser Kleinausführung ist das Abnehmermikrophon etwa 30 mm lang, 4 mm dick und 10 mm breit. Es wird mit nicht dehnbaren Klebestreifen oder schmalen Leinengurten am proximalen Teil des Schwanzes der Ratte befestigt.

Die *Kapazität* dieses kleinen elastischen Kondensatormikrophons beträgt etwa 12000 pF. Das ergibt bei einem Gitterableitwiderstand von 20 Megohm eine Zeitkonstante von etwa 0,25. Bei der hohen Pulsfrequenz

der Ratte (350—400 pro Minute) ist diese Zeitkonstante ausreichend, um auch den Verlauf des Pulses wiederzugeben. Interessiert nur die Pulsfrequenz, so kann die Zeitkonstante erheblich kleiner sein, wodurch die ganze Anordnung gegen mechanische Störungen noch weniger anfällig wird.

Was die *Empfindlichkeit* betrifft, so liefert das Mikrophon bei einer Vorspannung von 100 Volt eine elektrisch transformierte Pulsamplitude von etwa 0,5 mV. Es gibt also bereits an einem normalen Ekg.-Gerät ohne zusätzliche Verstärkung ein registrierbares Kurvenbild (Abb. 1 a).

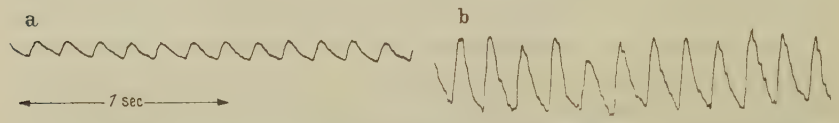


Abb. 1. Schwanzpuls der Ratte, *a* nur mit Ekg-Gerät (Cardioscript der Firma Schwarzer), *b* mit zusätzlichem einstufigem Vorverstärker (der geringfügige 50-Hertz-Brumm ist zufälliger Art).

Sind größere Pulsamplituden erwünscht, so ist dies durch Vorschaltung eines einstufigen Röhrenverstärkers (z. B. 10fache Verstärkung) ohne weiteres möglich (Abb. 1 b). Will man die Pulse nur zählen, so kann anstatt des Registrierschreibers ein Zählwerk (etwa nach Art der v. Muralt-schen Methode) oder auch ein direkt anzeigender Frequenzmesser zum Ablesen oder zur fortlaufenden Registrierung verwendet werden.

Zusammenfassung.

Es wird ein neues Verfahren zur fortlaufenden Registrierung des Pulses von Kleintieren (z. B. am Schwanze der Ratte) kurz beschrieben.

Literatur.

[1] Liechti, A., A. v. Muralt u. M. Reinert: Helvet. Physiol. Acta **1**, 79 (1943). — [2] Boucke, H., u. K. Brecht: Dtsch. med. Wschr. 1952, 562. — [3] Boucke, H., u. K. Brecht: Experientia, Vol. VIII/7, 275 (1952). — [4] Brecht, K., u. H. Boucke: Pflügers Arch. **256**, 43 (1952).

Prof. Dr. K. Brecht, Tübingen, Physiologisches Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 401—405 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz
(Direktor: Professor Dr. G. Kuschinsky).

Über die Wirkung des Salyrgan auf das isolierte Rattenzwerchfell.

Von
G. Kuschinsky, H. Mercker, E. Westermann und H. Lüllmann.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. September 1952.)

Sowohl biochemische Befunde wie auch klinisch-toxikologische Beobachtungen veranlaßten uns, die Wirkungen quecksilber-organischer Verbindungen auf die Muskulatur zu untersuchen. Wir verweisen auf die von Kuschinsky u. Turba[1, 2] bei Blockierung verschiedener Prozesse am Aktomyosin und die von Korey[3] mit $HgCl_2$ an glycerinextrahierten Muskelfasern erzielten Ergebnisse. Dazu kommen klinische Mitteilungen über die Nebenwirkungen der quecksilberhaltigen Diuretica, die in der Auslösung tetanieähnlicher Zustände an der Skeletmuskulatur und Schädigung des Herzens bestehen, wie z. B. Abnahme der Leitungsgeschwindigkeit, atrioventrikuläre Dissoziation, ventrikuläre Extrasystolie, Kammerflimmern[4–14].

Methodik.

Als quecksilberorganische Verbindung wurde von uns das Natriumsalz des 3-Oxymercuri-2-methoxy-propylamids des Salicylsäureglykolsäureäthers = Salyrgan (S) verwendet, weiterhin benutzten wir d-Tubocurarin (dTc) und Dekamethoniumjodid (C10)*.

Wir arbeiteten am isolierten Phrenicus-Zwerchfellpräparat der Ratte nach Bülbring[15], Art der Reizung und Lage der Elektroden wurden früher beschrieben[16]. Die Registrierung der Muskelverkürzung bzw. Spannung erfolgte bei isotonischer Anordnung auf dem Ruß-, bei isometrischer auf dem Photokymographion.

Die Muskelaktionspotentiale wurden mit Hilfe von chlorierten Silberelektroden abgeleitet, von denen die differente über einen Wattepinsel breitflächig mit dem Zwerchfell in Verbindung stand. Die so abgegriffenen Vorgänge wurden über einen Vorverstärker (Philipps GM 4570) auf den Oszillographen (Philipps GM 3156) übertragen. Die Ausschläge des Kathodenstrahles und die des Lichtpunktes der isometrischen Registrierung wurden gleichzeitig von einem Filmgerät mit beliebiger Laufgeschwindigkeit aufgenommen; die zeitliche Auflösung der elektrischen Vorgänge erfolgte also ohne das Kippgerät. Dieses wurde nur bei Einzelaufnahmen eingeschaltet.

* Für die genannten Substanzen danken wir folgenden Firmen: Farbwerke Hoechst, Frankfurt/M.-Höchst, Asta-Werke, Brackwede, und Cassella-Farbwerke Mainkur, Frankfurt/M.

Versuchsergebnisse.

A. Salyrganwirkung.

1. Ungereiztes Zwerchfell.

Bei Einwirkung von S in der Konzentration $1:10^3$ — $1:2 \times 10^3$ auf das ruhende Zwerchfell erschienen nach 1—2 min fibrilläre Zuckungen, die 5—8(—10) min anhielten (Abb. 1). Nach dem Auftreten der Fibrillationen kam es zu einer fortschreitenden Verkürzung bzw. Spannungsentwicklung des Muskels, die nach 7—12 min ihr Maximum erreichte. Bei längerer Einwirkung folgte auf diesen „ersten Tonusanstieg" ein

Abb. 1. Isoliertes Zwerchfell der Ratte. Isotonische Registrierung. ↑ = Salyrgan $1:10^3$. Zeit in Minuten.

zweiter, der sich langsam ausbildete und einen endgültigen Zustand darstellte. Zwischen dem ersten und zweiten Anstieg erfolgte in manchen Fällen eine Teilerschlaffung, meistens jedoch pflanzte sich der zweite Tonusanstieg auf den ersten auf.

2. Gereiztes Zwerchfell.

In dem Zeitpunkt, in dem S zu Fibrillationen führte, verursachte es sowohl bei indirekter als auch direkter Reizung eine Verzögerung der

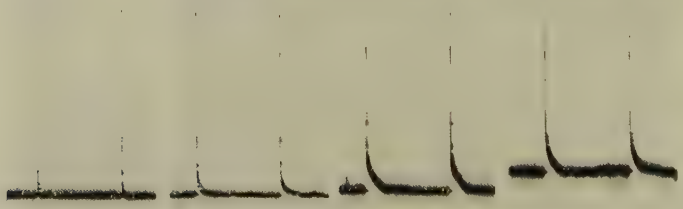


Abb. 2. Isoliertes Zwerchfell der Ratte. Isometrische Registrierung. Direkte Reizung: Frequenz 0,25 Hz, Impulsdauer 2 msec, Intensität supramaximal. Vor, 2 min, 4 min und 6 min nach Salyrgan $1:10^3$.

Erschlaffung des kontrahierten Muskels (Abb. 2). Als Beispiel seien die Werte bei isometrischer Registrieranordnung genannt: die Gesamtdauer einer Zuckung betrug zwischen 100—150 msec, unter S stieg dieser Wert

um das 5—10(—20)fache. Dabei war die Spannungsentwicklung bzw. das Ausmaß der Verkürzung zunächst nicht vermindert, dies trat erst nach längerer Einwirkung (5 –8 min) der Quecksilberverbindung ein. Die elektrische Erregbarkeit erlosch (zuerst die indirekte, dann die direkte) auf dem Höhepunkt des „ersten Anstieges".

3. Aktionspotentiale des Muskels.

Synchron mit den Fibrillationen ließen sich biphasische Aktionspotentiale ableiten (Abb. 3). Die Auswertung einer einzelnen Membran-

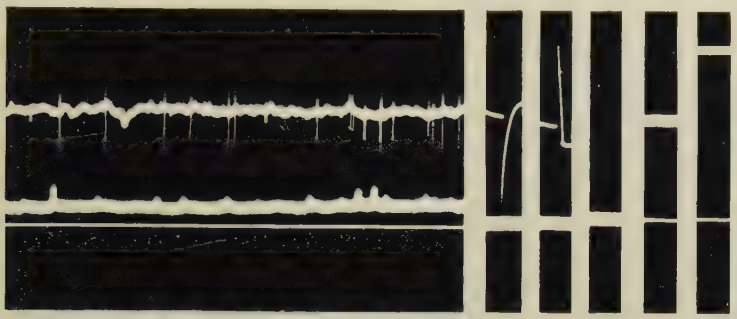


Abb. 3. Isoliertes Zwerchfell der Ratte. Obere Kurve: Oszillogramm der elektrischen Vorgänge des Muskels. Mittlere Kurve: Isometrische Registrierung der Muskeltätigkeit. Untere Kurve: Nullinie des Mechanogramms, entspricht einer Vorspannung von 5,0 g. Rechts: Eichzacke des Oszillogramms: 1 mV. Eichlinie des Mechanogramms: 5,0, 10,0 und 15,0 g. Aufnahme 3 min nach Salyrgan $1:10^3$.

potentialschwankung bei hoher Kippfrequenz des Oszillographen ergab für die entwickelte Spannung Werte bis 1 mV und die Dauer von 1 msec. Nach dem Aufhören der Fibrillationen konnten in keinem Fall Aktionspotentiale nachgewiesen werden.

B. Beeinflussung der Salyrganwirkung.

1. Calciumchlorid.

Die Fibrillationen, die Aktionspotentiale und die verzögerte Erschlaffung des salyrganvergifteten Muskels wurden durch Zusatz von $CaCl_2$ ($1:5 \times 10^2$ — $1:2 \times 10^3$) vollständig unterdrückt. Dabei war es gleichgültig, ob die Calciumionen vor oder während der Salyrganwirkung dem Bade zugesetzt wurden. Der „erste Tonusanstieg" konnte durch dieselbe Menge $CaCl_2$ vorübergehend durchbrochen werden, es kam zu einer kurzdauernden Erschlaffung (30—90 sec). Auf die endgültige „Kontraktur" nahmen die Calciumionen keinen Einfluß.

2. Curare und Dekamethoniumjodid.

Wurde der Muskel vor der Salyrgangabe mit dTc ($1:2 \times 10^5$ — $1:5 \times 10^5$) oder C 10 ($1:10^4$) versetzt, so traten nach S keine Fibrillationen und Muskelaktionspotentiale auf, die verzögerte Erschlaffung der Einzelzuckung und die Tonusanstiege blieben dagegen unbeeinflußt.

C. Wirkung des Quecksilber-2-chlorid.

In dem S entsprechenden Dosen löste $HgCl_2$ weder fibrilläre Zuckungen mit Potentialschwankungen, eine verzögerte Erschlaffung noch den „ersten Tonusanstieg" aus, es verursachte nur eine langsame Verkürzung des Muskels, die mit einem Verlust der elektrischen Erregbarkeit einherging.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Bei der Untersuchung der Wirkung des S auf das Zwerchfellpräparat der Ratte ergaben sich folgende Befunde:

1. Auslösung von Fibrillationen, die von Aktionspotentialen begleitet sind,
2. Verzögerung der Erschlaffung bei elektrisch ausgelösten Zuckungen,
3. erster Tonusanstieg,
4. Erlöschen der elektrischen Erregbarkeit,
5. Dauerverkürzung.

Die zeitliche Reihenfolge der einzelnen Phänomene war konstant, das absolute Zeitmaß aber von der S-Dosis und der individuellen Empfindlichkeit des Muskels abhängig. Als erstes folgten dem S-Zusatz Fibrillationen (1—2 min), wenige Minuten später wurde die Verzögerung der Erschlaffung deutlich. 3—5 min nach der S-Gabe begann der Tonusanstieg, der nach 7—12 min sein Maximum erreichte. Die Fibrillationen verschwanden einige Minuten, bevor der Anstieg des Muskeltonus seinen ersten Höhepunkt erlangte. In diesem Zeitabschnitt erlosch auch die elektrische Erregbarkeit, nachdem bereits vorher die Kontraktionshöhe auf supramaximale Reize abgenommen hatte. Auf den ersten, relativ schnellen Tonusanstieg folgte ein Intervall, in dem der Tonus leicht absank oder konstant blieb, bis sich schließlich ein erneuter, langsamer Tonusanstieg abzeichnete, der zur Dauerverkürzung führte und bis zu dessen Ausbildung es mindestens 25 min bedurfte.

Zusatz der neuromuskulär blockierenden Substanzen dTc und C10 verhinderte das Auftreten der Fibrillationen und der Aktionspotentiale, während Calcium-Ionen zusätzlich auch noch die verzögerte Erschlaffung der Einzelkontraktionen hemmten und eine kurzfristige Durchbrechung des ersten Tonusanstieges bewirkten.

Parallelversuche mit $HgCl_2$ zeigten ein unterschiedliches Verhalten zwischen diesem anorganischen Quecksilbersalz und S. So konnten nach Sublimatvergiftung des Muskels niemals Fibrillationen, Aktionspotentiale, die verzögerte Erschlaffung der Kontraktion und der „erste Tonusanstieg" demonstriert werden, lediglich der „zweite langsame Tonusanstieg" mit Verlust der Erregbarkeit war zu registrieren.

Der Deutung der S-Wirkung stellen sich große Schwierigkeiten entgegen, da das Nerv-Muskel-Präparat ein sehr komplexes Versuchsobjekt

ist. Als Angriffspunkt für die quecksilberorganische Verbindung können folgende Punkte in Frage kommen: 1. die Endplatte, 2. die Muskelmembran, 3. der Stoffwechsel der Zelle und 4. die kontraktilen Proteine. Aus den mitgeteilten Befunden können keine zwingenden Schlüsse gezogen werden, somit möchten wir auf jede Interpretation verzichten. Da eine pharmakologische Analyse der S-Wirkung angestrebt wird, ist eine spätere Charakterisierung des Wirkungsmechanismus eventuell möglich.

Zusammenfassung.

Das Natriumsalz des 3-Oxymercuri-2-methoxy-propylamids des Salicylsäureglykolsäureäthers = Salyrgan ruft in Konzentrationen $1:10^3$ bis $1:2\times10^3$ am isolierten Rattenzwerchfell folgende Effekte hervor:

1. Fibrillationen, die mit Aktionspotentialen einhergehen,
2. eine Verzögerung der Erschlaffung einer elektrisch ausgelösten Kontraktion,
3. einen „ersten Tonusanstieg",
4. Erlöschen der elektrischen Erregbarkeit und
5. einen langsamen „zweiten Tonusanstieg", der in eine Dauerverkürzung übergeht.

Quecksilber-2-chlorid in entsprechenden Konzentrationen zeigt lediglich Wirkung Nr. 4 und 5.

d-Tubocurarin und Dekamethoniumjodid verhindern das Auftreten von Fibrillationen und Aktionspotentialen nach Salyrgan. Calcium-Ionen unterdrücken diese ebenfalls, normalisieren zusätzlich noch die Erschlaffungsphase der Kontraktion und durchbrechen den „ersten Tonusanstieg" für kurze Zeit.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Literatur.

[1] Kuschinsky, G., u. F. Turba: Experientia **6**, 103 (1950). — [2] Turba, F., u. G. Kuschinsky: Biochim. et Biophys. Acta **8**, 76 (1952). — [3] Korey, S.: Biochim. et Biophys. Acta **4**, 58 (1950). — [4] De Graff, A. C., u. J. E. Nadler: J. Amer. Med. Assoc. **119**, 1006 (1942). — [5] Higgins, W. H.: J. Amer. Med. Assoc. **119**, 1182 (1942). — [6] Volini, J. F., R. O. Levitt u. R. I. Martin: J. Amer. Med. Assoc. **128**, 12 (1945). — [7] Long, W., u. A. Farah: J. of Pharmacol. **88**, 388 (1946). — [8] Marshall, F. A.: J. Amer. Med. Assoc. **133**, 1007 (1947). — [9] Lehmann, R. A.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **64**, 428 (1947). — [10] Farah, A.: J. of Pharmacol. **92**, 73 (1948). — [11] Wolff, L., u. E. S. Sagall: Arch. Int. Med. **81**, 137 (1948); zit. nach Ber. ges. Physiol. **139**, 408 (1950). — [12] Ruskin, A., u. J. E. Johnson: Proc. Soc. Exper Biol. a. Med. **72**, 572, 577, (1949). — [13] Craver, B. N., F. Yonkmann u. B. R. Rennick: Amer. Heart J. **40**, 590 (1950). — [14] Farah, A., u. W. Mook: J. of Pharmacol. **102**, 125 (1951). — [15] Bülbring, E.: Brit. J. Pharmacol. **1**, 38 (1946). [16] Lüllmann, H., W. Förster u. E. Westermann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 8 (1952).

Professor Dr. G. Kuschinsky, Mainz, Pharmakologisches Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 406—412 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. F. Eichholtz).

Vergleichende pharmakologische Untersuchungen am ermüdeten bzw. anoxämischen und normalen Skeletmuskel.

Von
M. Anders, W. Nieschke, H. Dahm und R. Taugner*.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. September 1952.)

Von Eichholtz und Mitarbeitern sind am „doppelten Masseterpräparat" der Ratte neue Methoden zur vergleichenden Untersuchung von Arzneimitteln am ermüdeten bzw. anoxämischen und normalen Muskel ausgearbeitet worden, die nunmehr auf eine Reihe muskelwirksamer Stoffe angewendet wurden; es bestand dabei die Hoffnung, daß eine solche Untersuchung auch neues Licht werfen würde auf die feineren Vorgänge, die mit Ermüdung und Anoxämie zusammenhängen.

Versuchsanordnung. Es wurden weiße Ratten im Gewicht von 150—200 g in Avertinnarkose (30 mg/100 g) verwendet. Die Präparation (Durchtrennung des Unterkiefers) erfolgte entsprechend der Beschreibung von Eichholtz u. Mitarb. Beide Masseteren wurden über Nadelelektroden getrennt durch Kondensatorenentladungen gereizt. Die Reizstärke wurde so gewählt, daß die Zuckungsamplituden beiderseits gleich waren.

Die *Ermüdung* des einen Masseters wurde durch frequente Einzelreize (280 bis 300/min für die Dauer von 15—20 min) erzielt. Bei anschließender Verminderung der Reizfrequenz auf 40—50/min stellten sich die Kontraktionen hier auf etwa 25% des Kontrollwertes ein, um sich erst innerhalb von Stunden wieder vollständig zu erholen. Dieses Stadium war für unsere Untersuchungen am besten geeignet. Die zweite Unterkieferhälfte diente als Kontrolle. Bei einigen Versuchen wurde vor der Injektion des Pharmakons die Reizstärke des Kontrollmuskels derart vermindert, daß die Ausschläge hier denen des ermüdeten Muskels entsprachen. Die Ergebnisse wurden dadurch nicht verändert.

Einseitige *Muskelischämie* erzeugten wir durch Abklemmen der betreffenden Carotis. Die Kontraktionen fielen hier innerhalb von etwa 10 min auf $^1/_{10}$ der Norm ab, häufig trat Unerregbarkeit ein. In diesem Stadium wurden die zu untersuchenden Pharmaka injiziert. Die Blutversorgung durch Kollateralen ist dabei offenbar verschieden, so daß nicht immer ein ausreichender Kontakt des anoxämischen Muskels mit dem injizierten Stoff erfolgt. Durch Freigabe der Carotis prüften wir abschließend, ob die Schädigung des Muskels reversibel war.

Intravenöse Injektionen erfolgten über eingebundene Kanülen in die Schwanzvenen der Tiere.

* Stipendiat der Forschungsgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft.

Versuchsergebnisse.

Ermüdung. Tab. 1 gibt die Ergebnisse mit Prostigmin, Pyridostigmin[1], Eserin, Tetraisopropylpyrophosphat, Mintakol[1], Strophanthin, Coffein und KCl am doppelten Masseterpräparat wieder. Die verwendeten Dosen entsprechen etwa denen von Hotovy und sind — hinsichtlich der Muskelwirkung — als optimal zu betrachten. Alle diese Pharmaka, welche am nichtermüdeten Muskel leistungssteigernd wirken, verbessern auch die Kontraktionen des ermüdeten Masseters.

Tabelle 1. *Die Wirkung von Prostigmin, Pyridostigmin, Eserin, Tetraisopropylpyrophosphat, Mintakol, Strophanthin, Coffein und KCl am normalen und ermüdeten Muskel.*

Pharmakon	Dosis/100 g	Anzahl der Versuche	Steigerung der Kontraktionshöhe d. normalen Muskels in %	Steigerung der Kontraktionshöhe des ermüdeten Muskels in %	Anzahl der Versuche mit stärkerer Wirkung am ermüdeten Muskel
Prostigmin . . .	2,5—5 γ	14	154 (38—775)[1]	457 (134—1640)	14
Pyridostigmin .	5 γ	10	267 (180—362)	642 (333—1800)	9
Eserin	5—10 γ	22	107 (7—400)	227 (38—610)	20
Tetraisopropyl- . pyrophosphat	150—250 γ	5	272 (94—500)	339 (75—665)	4
Mintakol	1,5—3 γ	26	175 (15—310)	229 (75—750)	18
Strophanthin . .	5×10 γ[2]	30	48 (0—200)	92 (0—270)	21
Coffein	5—15 mg	36	39 (0—150)	65 (0—200)	27
KCL	2—5×3 mg	10	6 (0—21)	36 (5—90)	8

[1] In Klammern jeweils die Streuungen.
[2] Die Strophanthin-Injektionen erfolgten in Abständen von je 5 min.

Wie aus der Tabelle weiter hervorgeht, war die Wirkung aller Pharmaka am ermüdeten Muskel stärker als am normalen Muskel. Abb. 1 und 2 geben typische Versuche mit Strophanthin und Coffein wieder.

Tab. 1 zeigt, daß die Leistungsverbesserung durch Pyridostigmin am normalen und ermüdeten Muskel stärker war als die durch Prostigmin. Seine Wirkungsdauer übertrifft die von Prostigmin um das 2—3fache. Die Wirkung von Theobromin und Theophyllin (je 5—10 mg/100 g) war schwächer als die von Coffein. Adrenalin

[1] Die Präparate Pyridostigmin (Hoffmann-La Roche) = Dimethylcarbaminsäureester des 1-Methyl-3-oxy-Pyridiniumbromids und Mintakol (Bayer) = Diäthyl-p-nitrophenylphosphat wurden uns in dankenswerter Weise von den Firmen Deutsche Hoffmann-La Roche A. G., Grenzach-Baden, und Farbenfabriken Bayer, Leverkusen, zur Verfügung gestellt.

(5 γ/100 g) verursachte am normalen und ermüdeten Muskel nur in einzelnen Fällen einen geringen Leistungsanstieg[1]. Völlig wirkungslos waren dagegen Glucose, Lävulose, Äthylalkohol, Glykokoll, Novocain, Cardiazol, Scopolamin und DOC-Glykosid. Coramin (5 mg/100 g) war wie in den Versuchen von Hotovy nur nach vorherigen Prostigmingaben wirksam. Na-Bicarbonat und Na-Citrat führten, während kleinere Dosen unwirksam waren, bei einer Gabe von 35 bzw. 5–6 mg/100 g sogar zu einem Abfall der Kontraktionen.

Anoxämie. Die Abklemmung einer Carotis stellt keine wohldefinierte Ischämie dar, so daß hier größere Schwankungen auftraten. Im Prinzip

Abb. 1.

Abb. 2.

Abb. 1. Doppeltes Masseterpräparat der Ratte (150 g ♂). Reizfrequenz = 45/min. *1–2* Der li. Masseter (oben) wird für 10 min mit einer Frequenz von 280–300/min gereizt. *3–7* i. v. Injektionen von jeweils 10 γ K-Strophanthin/100 g. Der ermüdete Muskel reagiert stärker.

Abb. 2. Doppeltes Masseterpräparat der Ratte (200 g ♀). Reizfrequenz = 50/min. *1* Trommelstillstand für 15 min. Während dieser Zeit wird der re. Masseter (unten) mit einer Frequenz von 280–300/min gereizt. Beim li. Masseter (oben) wird die Reizstärke derart vermindert, daß die Kontraktionen hier denen des ermüdeten Muskels entsprechen. *2* i. v. Injektionen von 5 mg Coffein/100 g. Stärkere Reaktion des ermüdeten Muskels.

bewirkten Prostigmin (19 Versuche), Pyridostigmin, Eserin, Tetraisopropylpyrophosphat und Mintakol (1, 2, 5 bzw. 8 Versuche) sowie Strophanthin, KCl und Coffein (12, 10 bzw. 14 Versuche) in der

[1] Papaverin (250–500 γ/100 g, 3—5mal in Abständen von 3—5 min) verbesserte in 15 Versuchen am einfachen Masseterpräparat (Eichholtz u. Hotovy) die Kontraktionen des ermüdeten Muskels um 20—50%. Octinum D (5 × 200 γ) wirkte ähnlich. Eupaverin, Priscol, Dilatol, Nitroglycerin und Histamin waren ohne Wirkung. Eine Gefäßerweiterung als Ursache der Papaverin- bzw. Octin-Wirkung ist daher unwahrscheinlich. Die gleichen Dosen von Papaverin und Octin waren in Kontrollversuchen am nichtermüdeten Muskel ohne Effekt.

angeführten Dosierung auch hier eine Verbesserung der Kontraktionen. Wichtig erscheint, daß Strophanthin am anoxämischen Muskel besonders starke Effekte ergab und z. B. selbst die Kontraktionen von unerregbar gewordenen Muskeln wesentlich verbesserte (Abb. 3). Während ATP (150—500 γ) die Leistung des normalen und ermüdeten

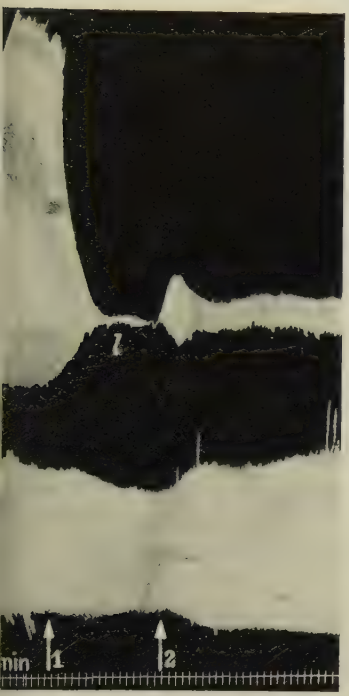


Abb. 3.

Abb. 4.

Abb. 3. Doppeltes Masseterpräparat der Ratte (200 g ♀). Reizfrequenz = 45/min. 1 = Abklemmen der li. Carotis (oben). 2 = i. v. Injektion von 50 γ K-Strophanthin/100 g. Verbesserung der Kontraktionen des anoxämischen Muskels.

Abb. 4. Doppeltes Masseterpräparat der Ratte (200 g ♂). Reizfrequenz = 45/min. 1 = Abklemmen der li. Carotis (unten). 2 = $^1/_4$ mg ATP i. v. Verbesserung der Kontraktionen des anoxämischen Masseters. 3 = Freigabe der li. Carotis. 4 = Abklemmen der re. Carotis (oben). 5 = $^1/_4$ mg ATP intravenös. Verbesserung der Kontraktionen des re. (anoxämischen) Masseters.

Muskels nicht beeinflußte, führte es bei Ischämie in 11 von 21 Versuchen zu einer deutlichen Verbesserung der Kontraktionen, selbst am unerregbar gewordenen Muskel (Abb. 4).

Um eine Gefäßerweiterung als Ursache dieser Wirkung auszuschalten, wurden auch Papaverin und Octinum D bei der Ischämie geprüft. Sie waren, ebenso wie Inosinsäure, DOC-Glykosid, Novocain und Pantocain hier ohne jeden Effekt.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Unsere Versuche ergaben, daß alle untersuchten Pharmaka, welche die Leistung des normalen Muskels verbessern, auch am ermüdeten Muskel wirksam sind. Am stärksten wirkten die Cholinesterasehemmer (vor allem Prostigmin und Pyridostigmin), dann Strophanthin und Coffein, am schwächsten KCl, Theobromin und Theophyllin. Wir fanden weiter, daß die Effekte aller dieser Stoffe auf den ermüdeten Muskel stärker sind. Es fragt sich, wie diese stärkere Wirkung am ermüdeten Muskel zustandekommt.

Seit Santesson ist bekannt, daß bei indirekter Reizung schon frühzeitig ein myoneuraler Block entsteht. Diese von Rosenblueth „transmission fatigue" genannte Erscheinung könnte auf einer Verminderung der Endplattenerregbarkeit oder auf einem Versagen der Acetylcholinbildung beruhen. Die größere Empfindlichkeit des ermüdeten Muskels gegenüber Prostigmin, Pyridostigmin, Eserin, Mintakol und Tetraisopropylpyrophosphat spricht auch in unseren Versuchen für eine Endplattenermüdung. Mintakol und Tetraisopropylpyrophosphat wirken ausschließlich über die Cholinesterasehemmung; bei hohen Konzentrationen von Prostigmin (weniger bei Eserin) kann außerdem eine direkte Wirkung auf die Endplatten ins Spiel kommen (Miquel, Riker u. Wescoe).

Die größere Empfindlichkeit des ermüdeten Muskels gegenüber Strophanthin, Coffein und KCl könnte ebenfalls z. T. die Endplatten betreffen. Strophanthin, dessen Wirkung auf den Skeletmuskel elektrophysiologisch noch nicht untersucht ist, soll zwar nach Lendle u. Oldenburg auf die Muskelfaser selbst wirken. Del Pozo fand allerdings, abgesehen von der Anoxämie, lediglich bei der „Überleitungsermüdung" eine verbessernde Wirkung des Strophanthins. Die von Hotovy u. König beschriebenen Wechselwirkungen zwischen Strophanthin und Prostigmin bzw. Novocain spielen sich vermutlich ebenfalls an der Endplatte ab. Auch beim Coffein sind Endplattenwirkungen bekannt: Coffein sensibilisiert die Endplatten gegenüber Acetylcholin und besitzt decurarisierende Effekte (Huidobro u. Amenbar). Auch KCl (dessen Wirkung auf den ermüdeten Muskel schon von Hoff u. Mitarbeitern untersucht wurde) wirkt dem Curareblock entgegen.

Für eine gewisse Ähnlichkeit zwischen dem Versagen der Endplatten bei Ermüdung und dem Curareblock sprechen u. a. die Versuche von Eichholtz u. Mitarb., nach denen der ermüdete Muskel gegenüber Curare empfindlicher ist als der normale Muskel. Der Curareblock besteht bekanntlich in einer Verminderung des Endplattenstroms (Abschwächung der Depolarisation). Dementsprechend wirken depolarisierende Stoffe wie Prostigmin, Pyridostigmin, Eserin, Mintakol, Tetraisopropylpyrophosphat, Coffein und KCl decurarisierend. Es scheint, daß die Wirkung der

genannten Stoffe auf den ermüdeten Muskel ebenfalls auf ähnlichen elektrophysiologischen Effekten im Bereich der Endplatte beruht. Unsere Ergebnisse zeigen jedenfalls, daß alle geprüften Substanzen, welche als Curareantagonisten bekannt sind, auch die Leistung des ermüdeten Muskels verbessern. Beim Strophanthin, aber auch bei Coffein und KCl könnte allerdings darüber hinaus auch die Muskelfaser an der Leistungsverbesserung beteiligt sein. Eine exakte Abtrennung der Reaktionen von Endplatte und Muskelfaser bei der Wirkung von Strophanthin, Coffein und KCl auf die Ermüdung soll in weiteren Versuchen bei direkter Reizung erfolgen.

Bei der Ischämie besteht nach unseren Versuchen keine gesteigerte Empfindlichkeit gegenüber Prostigmin, Eserin, Mintakol und Tetraisopropylpyrophosphat und demnach kein Anhaltspunkt für eine spezifische Schädigung der Endplatten. Auch Coffein und KCl zeigten hier keine stärkere Wirkung. Dagegen war Strophanthin bei Ischämie besonders gut wirksam. Del Pozo u. Pardo, welche denselben Effekt bei Katzen — auch nach Denervation — fanden, sprechen von einer echten inotropen Wirkung.

ATP ist der einzige Stoff, welcher nur bei Ischämie wirkt. Da die gefäßerweiternden Mittel bei Anoxämie versagten, handelt es sich hier wahrscheinlich nicht um eine Erweiterung der Kollateralen mit verbesserter Durchblutung, sondern um eine Wirkung der ATP auf den restitutiven Muskelstoffwechsel. Derartige Effekte sind am anoxämischen Herzen von Babskij u. Mitarbeitern beschrieben worden, waren aber bisher am Skeletmuskel unbekannt.

Zusammenfassung.

1. Vergleichende Untersuchungen am doppelten Masseterpräparat ergaben, daß Prostigmin, Pyridostigmin, Eserin, Mintakol, Tetraisopropylpyrophosphat, Strophanthin, Coffein, Theobromin, Theophyllin und KCl die Leistung des ermüdeten Muskels stärker verbessern als die des normalen Muskels. Diese größere Ansprechbarkeit des ermüdeten Muskels scheint vor allem auf einer spezifischen Ermüdung der Endplatten zu beruhen. Bei der Wirkung von Strophanthin, Coffein und KCl ist außerdem eine Beteiligung der Muskelfasern möglich.

2. Der ischämische Muskel zeigte gegenüber Strophanthin eine im Vergleich zum normalen gesteigerte Ansprechbarkeit. ATP hebt sich aus allen untersuchten Stoffen dadurch hervor, daß es am normalen und ermüdeten Muskel unwirksam war, am ischämischen Muskel dagegen zu einer starken Leistungssteigerung führte. Die übrigen untersuchten Substanzen zeigten diesen Unterschied zwischen normalem, ermüdetem und anoxämischem Muskel nicht.

Literatur.

Babskij, E. B., A. E. Gurvic u. G. A. Erznia: Dokl. Akad. Nauk SSSR **74**, 631 (1950); Ref. in Ber. ges. Physiol. **148**, 64 (1952). — Burns, W., u. E. W. H. Cruickshank: J. of Physiol. **91**, 314 (1937). — Weicker, B.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **174**, 383 (1934). — Del Pozo, E. C.: Bol. Est. Med. Biol. **2**, 93, (1943); zit. nach Pardo, E. G., D. Garcia-Tellez und E. C. Del Pozo: J. of Pharmacol. **101**, 63 (1951). - Del Pozo, E. C., und E. G. Pardo: J. of Pharmacol. **97**, 144 (1949). — Eichholtz, F., R. Hotovy und H. Erdniss: Arch. internat. Pharmacodynamie **80**, 62 (1949). — Eichholtz, F., R. Taugner und H. Dahm: Pflügers Arch. **254**, 513 (1952). - Hoff, H. E., A. W. Winkler und P. K. Smith: Amer. J. Physiol. **131**, 615 (1941). — Hotovy, R., u. H. Erdniss: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 204 (1950). — Hotovy, R., u. W. König: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 175 (1951). — Huidobro, E., u. E. Amenbar: J. of Pharmacol. **84**, 82 (1945). — Lendle, L., u. D. Oldenburg: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 243 (1950). — Miquel, O.: J. of Pharmacol. **88**, 67 (1946). — Riker, W. F., u. W. C. Wescoe: J. of Pharmacol. **88**, 58 (1946). — Rosenblueth, A., u. J. V. Luco: Amer. J. Physiol. **126**, 39 (1939).

Dr. R. Taugner, Pharmakologisches Institut, Heidelberg.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 413—429 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. G. Kuschinsky).

Zur Frage der thyreostatischen Wirkung von Rhodanid.

Von
Werner Förster.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. September 1952.)

Nachdem Barker und Mitarbeiter[1, 2] bei der Behandlung von Hypertonikern mit Rhodanid in einigen Fällen Kropfbildung und Zeichen einer Schilddrüsen (SD)-Unterfunktion gesehen haben — Befunde, die neuerdings[3–5] bestätigt worden sind —, wurden zahlreiche experimentelle Arbeiten veröffentlicht, in denen versucht wurde, die Wirkungsweise von Rhodanid im Vergleich zu der anderer thyreostatisch wirksamer Substanzen zu klären.

Der kropferzeugende Effekt von Rhodanid kann leicht durch Zugabe von Jodid aufgehoben werden[6, 7]. Während Astwood und Huf und Mitarbeiter durch anorganisches Jod keine Beeinflussung der Kropfbildung nach Thioharnstoffgabe sahen und daraus auf eine verschiedene Wirkungsweise von Rhodanid und Thioharnstoff-Thiouracil schlossen, zeigten Studer[8] und Sadhu[9], daß man durch entsprechend hohe Joddosen auch die Thioharnstoff- oder Thiouracilkropfbildung unterdrücken kann. Organisches Jod in Form von jodiertem Kasein oder Thyroxin[7] hemmt sowohl die Kropfbildung durch Thioharnstoff als auch die durch Rhodanid.

Über einen prinzipiellen Wirkungsunterschied zwischen den Thioharnstoff- und Thiouracilabkömmlingen einerseits und Rhodanid andererseits gaben Untersuchungen mit radioaktivem Jod Aufschluß. Franklin, Chaikoff und Lerner[10] fanden bei in vitro-Untersuchungen über die Aufnahme und Umwandlung von radioaktivem Jod durch SD-Schnitte, daß Thiouracil und Thioharnstoff die Umwandlung des aufgenommenen Jodes in Dijodtyrosin hemmt, während Rhodan bereits die Ansammlung von Jod weitgehend unterbindet. Wolff, Chaikoff, Taurog und Rubin[11] fanden, daß Rhodanid die Jodkonzentrationskapazität der SD normaler jodarm ernährter Ratten hemmt, wenn es kurz vor dem Töten appliziert wird. Nach Untersuchungen von Astwood u. a.[12–14] verringert chronische Thiouracilgabe sehr stark den Jodgehalt der SD. Injiziert man diesen mit Thiouracil vorbehandelten Ratten Jodid, so vermag die SD große Mengen Jodid an sich zu reißen und eine kurze Zeit als anorganisches Jod zu halten. Vanderlaan u. Vanderlaan[15] zeigten an chronisch mit Propyl-thiouracil vorbehandelten Ratten, daß kurz vor dem Töten einmalig appliziertes KSCN (0,03—10 mg) die sonst übliche starke Jodidaufnahme beträchtlich vermindert. Diese Hemmung dauert 3 bis 4 Std an.

Rhodanid unterbindet oder zerstört das Jodidkonzentrationsgefälle SD: Serum, das normalerweise etwa 25:1 beträgt. Raben[16] zeigte, daß andererseits selbst sehr hohe Dosen von Rhodanid dieses Verhältnis nicht unter den Wert von 1 senken können.

Auf die Verwandtschaft des „Pseudohalogen" Rhodanid zu Jodid wies bereits Pauli[17] hin. Trotz der chemischen und pharmakologischen Ähnlichkeit unterscheiden sie sich jedoch in ihrem Verhalten der SD gegenüber. Astwood[18] und Wood u. Williams[19] wiesen durch radioaktive Substanzen nach, daß Rhodanid nicht wie das Jodid elektiv in der SD in einer größeren Menge aufgenommen wird, als es im Plasma und einzelnen Organen erscheint. Wood u. Williams untersuchten die Frage, ob Rhodanid in organischer Form von der SD gebunden wird. Sie fanden, daß die Menge des an Eiweiß gebundenen Rhodanidschwefels in der SD elektiv vermehrt war. Man kann aus diesem Befund einen Analogievorgang zur Thyroxinsynthese ableiten. Propylthiouracil vermag diesen Vorgang ähnlich wie beim Jod zu hemmen. Easterwood u. Wood[20] nahmen zur Erklärung an, daß Tyrosin mit Thiocyanogen zu Thiocyanotyrosin reagiert. Ob das auf diese Weise entstehende Produkt ähnlich wie Thyroxin stoffwechselwirksam ist, wurde unseres Wissens nach noch nicht untersucht. Die Hemmung der Jodkonzentrationsfähigkeit der SD durch Rhodan glauben Wood u. Williams auf die Weise zustandegekommen, daß Rhodan das zunächst in einer losen, reversiblen Proteinbindung gehaltene Jodid von dem Enzymsystem verdrängt, das Jodid in organische Proteinbindung überführt.

Zur Frage des Stoffwechselverhaltens rhodangefütterter Tiere liegen kaum Untersuchungen vor. Hölscher u. Pöppinghaus[21] untersuchten den Einfluß von Cholinrhodanid auf den Stoffwechsel von Ratten. Sie sahen nach täglichen Gaben von 5—50 mg/100 g bei einer SD-Gewichtszunahme um das 2—4fache eine Grundumsatzsenkung um durchschnittlich 10—29%.

Die in dieser Arbeit vorgelegten Ergebnisse sollen die Wirkungsweise von Rhodanid, Methylthiouracil (MTU) und Kaliumjodid auf den Stoffwechsel, das SD-Gewicht und das histologische Bild weiterhin beleuchten.

Methodik.

Die 9 Versuchsreihen, von denen hier berichtet wird, erstreckten sich über den Zeitraum von Oktober 1949 bis Dezember 1950. Wir verwendeten männliche Albinoratten, denen Kalium- und Natriumrhodanid per os gegeben wurde. In der Dosierung richteten wir uns zunächst nach den Angaben von Huf u. Auffahrt[7], die mit 50 mg KSCN/100 g täglich bei Ratten eine starke SD-Hyperplasie erhalten hatten. Wegen der bei dieser Dosierung von uns des öfteren beobachteten Stoffwechselsteigerung und hohen Mortalität reduzierten wir später die Dosis auf 35, 25 und 12 mg/100 g. Die Versuchsdauer der einzelnen Reihen variierten wir zwischen 6 und 63 Tagen.

Als Kriterien der Wirkung zogen wir die Ergebnisse der Stoffwechselbestimmungen, das SD-Gewicht und das histologische Bild heran. Die Auswertung der Stoffwechselergebnisse bereitete Schwierigkeiten, da uns das bisher übliche Verfahren des Vergleiches der Mittelwerte zweier Stoffwechselkurven ohne Berücksichtigung der statistischen Streuung unzulänglich erschien. Wir entwickelten im Laufe der Versuche eine auf statistischer Grundlage fußende Methode, die unter Berücksichtigung der Streuung einen exakten Vergleich der Stoffwechselwirkung zweier oder mehrerer Substanzen zuläßt (Förster[22]). Hierzu ist eine nach statistischen Gesichtspunkten zweckmäßige Versuchsanordnung zu treffen, die wir in unseren Versuchen schrittweise entwickelt haben. Die ersten Versuche lassen — und dies trifft besonders für Fälle mit kleinen Unterschieden in der Wirkung zweier Substanzen zu — die für eine statistische Sicherung ausreichende Zahl von Stoffwechseleinzelwerten noch vermissen. Wenn daher die Wirkung einzelner Substanzen in diesen ersten Versuchen nur statistisch warscheinlich war, ist dies auf

die zu kleine Zahl von Einzelwerten zurückzuführen. Spätere Versuche mit vermehrter Zahl von Werten brachten eindeutige Ergebnisse.

Um das normale Verhalten des Stoffwechsels an Kontrolltieren verfolgen zu können, wurde einer gleichgroßen Gruppe von Ratten die entsprechende Menge 0,9% NaCl-Lösung verabfolgt. Es fiel auf, daß die Stoffwechselwerte bei länger andauernden Versuchen (etwa über 14 Tage) regelmäßig eine absinkende Tendenz zeigten, wogegen bei kürzerer Versuchsdauer infolge zufälliger Streuung der wenigen Bestimmungswerte das Stoffwechselverhalten uncharakteristisch war. Die Ursache des Absinkens des Stoffwechsels bei den Kontrolltieren wurde von uns nicht weiter untersucht. Es erscheint uns aber wichtig zu betonen, daß die stoffwechselsenkende Wirksamkeit eines Pharmakon nicht aus dem Unterschied der Stoffwechselwerte vor und nach seiner Verabreichung zu ersehen ist. Das exakte Ergebnis ist allein aus dem Vergleich zwischen den Versuchswerten der behandelten und der Kontrolltiere zu ermitteln, allerdings unter der Voraussetzung, daß die Stoffwechselwerte beider Tiergruppen vor Beginn des Versuches eine nur zufällige Streuung aufwiesen.

Parallel zu dem Hauptversuch wurde in 7 von 9 Versuchsreihen als Standardgruppe für eine Stoffwechselsenkung eine Rattengruppe mitgeführt, der eine wirksame Dosis MTU injiziert wurde. Daß die Auswertung nicht in allen Fällen eine statistisch gesicherte Stoffwechselsenkung ergab, lag an der von uns immer wieder beobachteten 8—14tägigen Latenzzeit, mit der die stoffwechselsenkende Wirkung von MTU auftrat. In kurzfristigen Versuchen reichten die wenigen nach dieser Latenzzeit erhobenen Bestimmungen für eine statistische Sicherung nicht immer aus. Trotzdem war die stoffwechselsenkende Tendenz von MTU im Gesamtbild so einheitlich, daß an unserer methodischen Möglichkeit, sie eindeutig nachweisen zu können, kein Zweifel besteht.

Zu unseren Versuchen verwendeten wir 100—150 g (Anfangsgewicht) schwere Albinoratten verschiedener Stämme. Sie wurden gruppenweise in Ställen gehalten und mit Körnerfutter, Fischmehl, Lebertran und Küchenabfällen ernährt. Wasser ad libitum. Im Laufe der Versuche zeigte sich, daß 24 Std nach Fütterung mit Lebertran, Fischmehl und Kartoffelschalen eine Stoffwechselsteigerung zu beobachten war. Daraufhin wurde den Tieren 48 Std vor der Stoffwechselbestimmung ausschließlich Körnerfutter angeboten. Die Stoffwechselbestimmungen der einzelnen Rattengruppen erfolgten jeweils zur gleichen Tageszeit an Tieren, denen 8—14 Std vorher die Nahrung entzogen worden war. Die Konstanz der Stalltemperatur konnte im Winter 1949 bei plötzlichen Temperaturstürzen nicht immer aufrecht erhalten werden. Beim Vergleich der Stoffwechselwerte und der Außentemperatur fiel auf, daß 24 Std nach einem Temperatursturz bei allen Rattengruppen eine nicht unerhebliche Stoffwechselsteigerung zu beobachten war, ein Befund, der experimentell von Christmann[23] weiter verfolgt wurde. Die Stalltemperatur während der Versuche im Jahre 1950 wurde deshalb konstant über 18° C gehalten.

Die zu untersuchenden Substanzen wurden in physiologischer NaCl-Lösung gelöst bzw. suspendiert den Tieren einmal täglich mit der starren Magensonde verabreicht. 1 cm³ Flüssigkeit enthielt die für 100 g Körpergewicht bestimmte Dosis*. Die Stoffwechselbestimmungen wurden mit der Apparatur von G. Hecht[24] ausgeführt, die in der Kalilauge enthaltene Menge CO_2 durch Titrieren nach Winkler[25] bestimmt. Während der Untersuchung wurde die Temperatur des Wasserbades nach Herrington[26] auf 27° C gehalten. Die Sauerstoff- und CO_2-Werte wurden in Kal/m²/24 Std umgerechnet, wobei das Durchschnittgewicht der Rattengruppe in die Oberflächenformel $(O = \sqrt[3]{\text{Gewicht}^2} \cdot 9{,}0)$ eingesetzt wurde. Die

* Die Kontrollratten erhielten 1 cm³ NaCl-Lösung/100 g Körpergewicht.

Stoffwechselbestimmungen erfolgten an Tiergruppen von 6—8 Ratten, die gemeinsam in einem Käfig untersucht wurden. Diese Methode ist nicht nur arbeitssparend, sondern sie hat nach Lundholm[27] gegenüber den Einzelbestimmungen den Vorteil einer wesentlich kleineren Streuung. Durch mehrere Zwischenbestimmungen innerhalb der etwa zweistündigen Untersuchungsdauer erhält man auch bei der Gruppenuntersuchung die für die statistische Auswertung benötigte Zahl von Versuchswerten. Nach einer etwa halbstündigen Vorperiode errechneten wir alle 20 min einen Versuchswert.

Unsere wie alle ähnlich gewonnenen Stoffwechselwerte sind keine Grundumsatzwerte, wie Bahner[28] nachweisen konnte; daher läßt sich bei den nach Zuführung eines Pharmakons gewonnenen Werten nicht mit Sicherheit sagen, inwieweit die Änderung der Stoffwechselgröße nicht auch durch eine Änderung der Motilität der Tiere bedingt ist. Diese Einschränkung möchten wir für alle hier vorgelegten Ergebnisse vornehmen.

Die statistische Auswertung der Stoffwechselergebnisse erfolgte nach dem früher[22] ausführlich beschriebenen Verfahren. Die Vorversuche der zu vergleichenden Gruppen wurden mit der Varianzanalyse[29] auf signifikante Abweichungen geprüft. Bei einheitlichen Versuchsergebnissen wurden die Stoffwechselergebnisse je zweier Guppen nach Behandlungsbeginn mit der Kovarianzanalyse auf Unterschiede in der Stoffwechselhöhe und Neigung der Regressionsgeraden verglichen.

Die Organgewichte wurden ebenfalls mit der Varianzanalyse auf signifikante Unterschiede geprüft. Durch die Berücksichtigung der oft erheblichen Streuung konnten Scheinergebnisse, wie sie ein Vergleich der Mittelwerte liefert, verhindert werden.

Die histologische Auswertung, die bei der Mehrzahl der Versuchsreihen durch Rothländer[30] durchgeführt wurde, erfolgte in der Weise, daß unter Berücksichtigung der Epithelhöhe, der Follikelgröße, der Kolloidbeschaffenheit und der Durchblutungsstärke für jede SD ein Grad der histologischen Aktivität bestimmt wurde. Der Bereich der Aktivität erstreckt sich von 1 (sehr ruhig) bis 4 (sehr aktiv). Das arithmetische Mittel der Aktivitätsgrade der einzelnen Drüsen ergab den Durchschnittswert der Gruppe. Versuchsreihe 5 und 8 wurde histologisch in der im Text beschriebenen Art und Weise durch Christmann* ausgewertet.

Ergebnisse.

Im folgenden wird über 9 Versuchsreihen berichtet, in denen Rhodanid in verschiedenen Dosen gegeben wurde: 4 Versuchsreihen mit 50 mg/100 g (11—29tägige Behandlungsdauer), 1 Versuchsreihe mit 35 mg/100 g (63tägige Behandlungsdauer), 3 Versuchsreihen mit 25 mg/100 g (6—34tägige Behandlungsdauer) und 1 Versuchsreihe mit 12 mg/100 g (18tägige Behandlungsdauer).

1. Versuchsreihe vom 27. 9. —31. 10. 1949: 50 mg/100 g KSNC über einen Zeitraum von 11 Tagen.

Nähere Einzelheiten über den Versuch sind Tab. 1 zu entnehmen.

Der Stoffwechsel der Rhodanidgruppe ist gegenüber dem der NaCl-Kontrollgruppe signifikant gesteigert (P = 0,01—0,001, s. Abb. 1). Die

* Für die Aufarbeitung und Auswertung des histologischen Materials möchten wir auch an dieser Stelle Herrn Dr. W. Christmann, jetzt Kaiserslautern, danken.

Tabelle 1.

	Dosis mg/ 100 g	Behandlungsdauer in Tagen	Zahl der Ratten am Anfang u. Ende der Versuchsreihe		Durchschnittl. Anfangs- und Endgew. der Ratten		Anzahl d. Stoffw.-Vers. an versch. Tagen	Erster—letzter Vers.-Tag der Stoffwechsel-Untersuchung	
0,9% NaCl	1 cm³	17	5	5	135	143	5	1	18
KSCN	50	11	5	3	138	135	4	2	12

scheinbar so stark verschiedene Richtung der Stoffwechselgeraden ist statistisch nicht gesichert (P = 0,2—0,05). Eine Auswertung der SD-Gewichte sowie des histologischen Bildes wurde nicht durchgeführt.

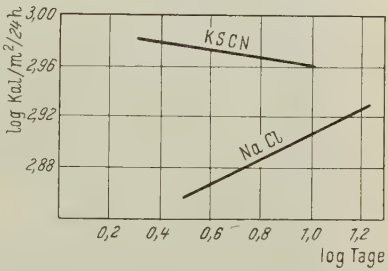


Abb. 1. Stoffwechselregressionslinien der NaCl-Kontrollgruppe (Y = 2,81913 + 0,08327 X) und der KSCN-Gruppe (Y = 2,98793 − 0,02530 X). ——— bedeutet statistisch signifikante Verschiedenheit der Stoffwechselhöhe von der der NaCl-Gruppe. — Abscisse: Behandlungsdauer in Tagen. Ordinate: Stoffwechselgröße (Kal/m²/24 Std), beide in logarithmischem Maßstab aufgetragen.

Eine bei dieser Versuchsreihe mitgeführte MTU-Gruppe (11,6 mg/100 g) zeigte bis einschließlich 10. Behandlungstag keine statistisch gesicherte Stoffwechselsenkung. Am 14. Behandlungstag war eine starke Stoffwechselsenkung vorhanden, die kurvenmäßig nicht dargestellt werden kann, da der Versuch anschließend abgebrochen wurde.

2. Versuchsreihe vom 13. 2.—31. 3. 1950: KSCN 50 mg/100 g über einen Zeitraum von 16 Tagen.

Nähere Einzelheiten über den Versuch siehe Tab. 2.

Tabelle 2.

Dosis mg/100 g	Behandlungsdauer in Tagen	Zahl der Ratten am Anfang und Ende des Versuches		Durchschnittl. Anfangs- und Endgew. d. Ratten		Anzahl der Stoffw.-Unters. an versch. Tagen	*Erst.—letzt.* Versuchstag d. Stoffw.-Untersuchung		Durchschnittl. SD-Gewicht mg/100 g	Durchschnittl. histol. Aktivität
0,9% NaCl 1 cm³	23	8	4	163	182	4	3	23	8,7	2,25
KSCN 50	16	12	6	183	185	5	3	16	16,01	2,9
KSCN 50	22	13	6	193	200	5	3	23	18,9	3,6

Der Stoffwechsel der Rhodanid-Gruppe ist während der 16tägigen Behandlung gegenüber der NaCl-Gruppe nicht signifikant gesenkt (P = 0,2—0,05, s. Abb. 2). Trotz der hohen durchschnittlichen SD-Gewichtszunahme ergibt die Varianzanalyse keine signifikante Steigerung des SD-Gewichtes der Rhodanidgruppe

(P - 0,2 0,05). Das histologische Bild stimmt mit dem Ergebnis der SD-Gewichtsauswertung überein. Die durchschnittliche Aktivität der KSCN-SD ist etwas größer als bei den Kontrolltieren, jedoch findet man ruhige, mittelstark veränderte und stark aktive SD in etwa gleichem Verhältnis (Rothländer).

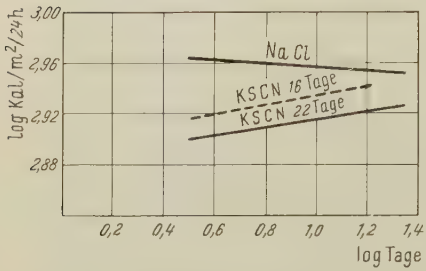


Abb. 2. Stoffwechselregressionslinien der NaCl-Kontrollgruppe (Y = 2,97008 — 0,01255 X), der KSCN-Gruppe nach 16tägiger Behandlung (Y = 2,90031 + 0,03328 X) und der KSCN-Gruppe nach 22tägiger Behandlung (Y = 2,88708 + 0,030147 X). - - - - bedeutet keine signifikante Abweichung der Stoffwechselhöhe, ——— bedeutet signifikante Abweichung der Stoffwechselhöhe von der der NaCl-Kontrollgruppe. Abscisse: Behandlungsdauer in Tagen. Ordinate: Stoffwechselgröße in Kal/m²/24 Std, beide in logarithmischem Maßstab aufgetragen. Die Richtungen aller drei Stoffwechselgeraden weichen nicht signifikant voneinander ab (P = 0,2 — 0,05).

3. Versuchsreihe vom 13. 2.—28. 3. 1950: KSCN 50 mg/100 g über einen Zeitraum von 22 Tagen.

Nähere Einzelheiten über den Versuch siehe Tab. 2.

Der Stoffwechsel der Rhodanidgruppe ist während der 22tägigen Behandlung gegenüber dem der NaCl-Gruppe signifikant gesenkt

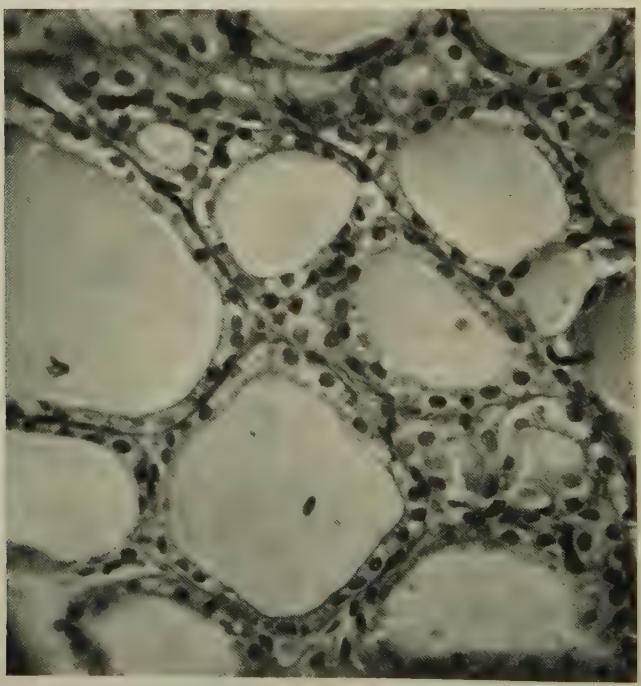


Abb. 3. Schilddrüse einer NaCl-Kontrollratte aus Versuchsreihe 3. Histologische Aktivität: 2 (siehe Text). H.E.-Färbung, Vergrößerung 420:1.

($P = 0{,}01$—$0{,}001$, siehe Abb. 2). Die SD-Gewichte sind zwar nicht eindeutig signifikant erhöht ($P > 0{,}01$), jedoch wäre in dieser Versuchsreihe bei einer größeren Zahl von Versuchstieren ein signifikantes Ergebnis mit Sicherheit zu erwarten gewesen. Die KSCN-SD dieser Versuchsreihe sind histologisch die am stärksten aktivierten sämtlicher

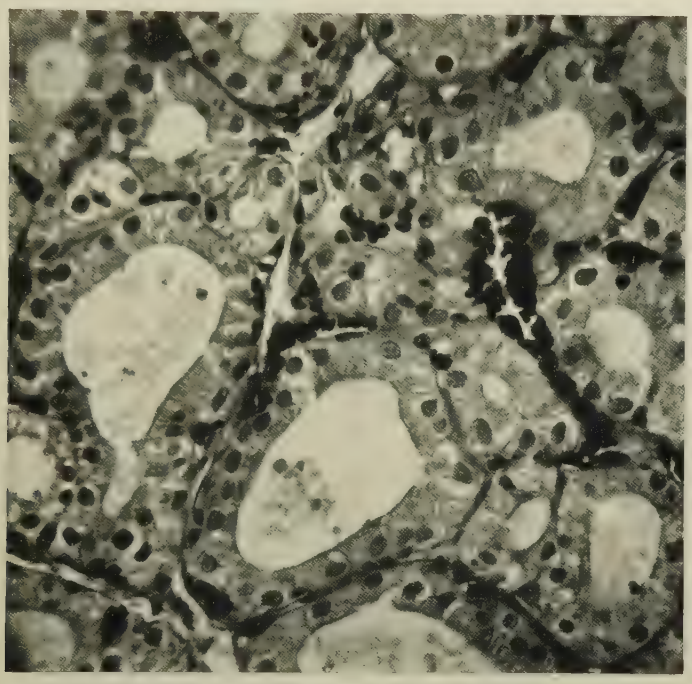


Abb. 4. Schilddrüse einer KSCN-behandelten Ratte aus Versuchsreihe 3 mit stärkster histologischer Aktivierung (-4) und signifikanter Stoffwechselsenkung. H.E.-Färbung, Vergrößerung 420:1.

KSCN-Versuchsreihen (s. Abb. 3 und 4). Es ist auffallend, daß die stärkste histologische Aktivierung mit der einzigen von uns beobachteten Stoffwechselsenkung durch KSCN zusammenfällt.

4. Versuchsreihe vom 7. 11.—21. 12. 1949: KSCN 50 mg/100 g über einen Zeitraum von 29 Tagen.

Nähere Einzelheiten über den Versuch siehe Tab. 3.

Der Stoffwechsel der Rhodanidgruppe ist während der 29tägigen Gabe gegenüber dem der NaCl-Gruppe nicht signifikant verschieden. ($P < 0{,}05$, siehe Abb. 5). Der Stoffwechsel der zum Vergleich untersuchten MTU-Gruppe zeigt bis zum 13. Behandlungstag keinen

Unterschied zur NaCl-Gruppe ($P > 0{,}2$), nach dem 13. Tag tritt eine starke Stoffwechselsenkung auf (Abb. 5), die jedoch wegen der zu geringen Zahl von Stoffwechselbestimmungen nach Beginn der

Tabelle 3.

Dosis mg/100 g	Behandlungsdauer in Tagen	Zahl der Ratten am *Anfang* und *Ende* des Versuches	Durchschn. *Anfangs-* und *End*gewichte der Ratten	Anzahl der Stoffw.-Unters. an versch. Tagen	*Erst.* u. *letzt.* Versuchstag d. Stoffw.-Untersuchung	Durchschnittl. SD-Gewicht mg/100 g	Durchschnittl. histol. Aktivität
0,9% NaCl 1 cm³	29	8 8	124 157	5	3 30	9,7	1,75
KSCN 50	29	8 2	178 187	8	3 31	14,2	2,0
MTU 11,6	25	6 3	130 161	4	8 27	48,6	4,0

Stoffwechselsenkung statistisch noch nicht einwandfrei gesichert ist ($P > 0{,}01$).

Die SD-Gewichte der KSCN-Ratten weichen in Übereinstimmung mit dem Stoffwechselverhalten nicht von denen der NaCl-Tiere ab ($P = 0{,}2$ —0,05), während die SD-Gewichte der MTU-Tiere signifikant gesteigert

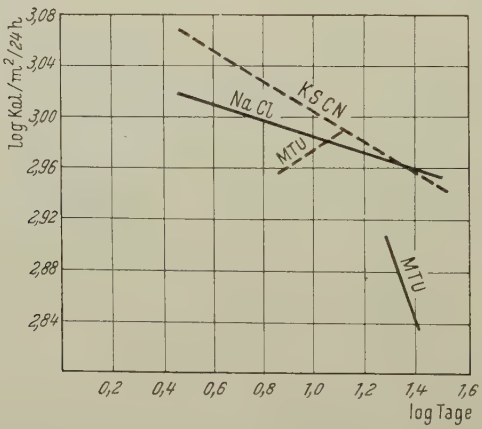


Abb. 5. Stoffwechselregressionslinien der NaCl-Kontrollgruppe (Y = 3,04955 — 0,06271 X), der KSCN-Gruppe (Y = 3,13043 — 0,12288 X), der MTU-Gruppe vor Eintritt der Stoffwechselsenkung (Y = 2,85460 + 0,11745 X) und der MTU-Gruppe nach Eintritt der Stoffwechselsenkung (Y = 3,60041 — 0,53619 X). - - - - - bedeutet keine signifikante Abweichung der Stoffwechselhöhe, ——— bedeutet signifikante Abweichung der Stoffwechselhöhe von der NaCl-Kontrollgruppe. Abscisse: Behandlungsdauer in Tagen. Ordinate: Stoffwechselgröße in Kal/m²/24 Std, beide in logarithmischem Maßstab aufgetragen. Die Richtungen aller Stoffwechselgeraden weichen nicht signifikant voneinander ab ($P = 0{,}2$).

sind ($P < 0{,}001$). Auch das histologische Bild der Rhodanid-SD gleicht dem der NaCl-Kontrollen mittlerer Aktivität, während die MTU-SD entsprechend der Gewichtszunahme sehr stark aktiviert sind (Rothländer).

5. Versuchsreihe vom 29. 9.—18. 12. 1950: NaSCN 35 mg/100 g über einen Zeitraum von 63 Tagen.

Die Stoffwechselbestimmungen dieses Versuches wurden zusammen mit E. Muscholl[31], die histologischen Präparate und deren Auswertung von W. Christmann durchgeführt.

Nähere Einzelheiten über den Versuch siehe Tab. 4.

Tabelle 4.

Dosis mg/100 g	Behandlungsdauer in Tagen	Anzahl der Stoffw.-Unters. an versch. Tagen	*Erst.* u. *letzt.* Versuchstag d. Stoffw.-Untersuchung	Durchschn. *Anfangs-* und *End*gewichte der Ratten	Zahl der Ratten am *Anfang* und *Ende* des Versuches	Durchschnittliches *SD HVL Lebergew.* mg/100 g g/100 g
0,9% NaCl 1 cm³	63	9	11 64	102 193	14 10	5,65 2,86 3,36
NaSCN 35	63	11	11 64	95 188	7 5	9,22 2,21 3,30

Die Stoffwechselhöhe der Rhodanidgruppe ist während der 63tägigen Gabe gegenüber der der NaCl-Kontrollgruppe nicht eindeutig gesteigert. ($P > 0{,}01$, siehe Abb. 6.) Das SD-Gewicht dagegen ist signifikant erhöht ($P < 0{,}01$). Zur histologischen Auswertung wurde die Zellhöhe der

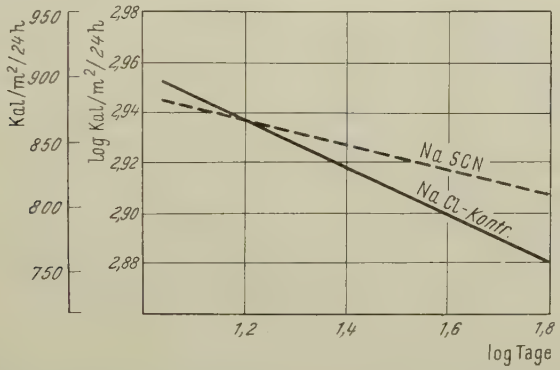


Abb. 6. Stoffwechselregressionslinien der NaCl-Kontrollgruppe ($Y = 3{,}05082 - 0{,}09423\ X$) und der NaSCN-Gruppe ($Y = 2{,}99827 - 0{,}05026\ X$). - - - - bedeutet keine signifikante Abweichung der Stoffwechselhöhe der NaSCN-Gruppe von der der NaCl-Gruppe. Abscisse: Behandlungsdauer in Tagen. Ordinate: Kal/m²/24 Std, beide in logarithmischem Maßstab gezeichnet. Die Richtung der beiden Stoffwechselgeraden weicht nicht voneinander ab ($P > 0{,}05$).

Epithelien und die Kerngröße mit dem Okularmikrometer ausgemessen sowie das Verhältnis der kolloidarmen zu den kolloidreichen Follikeln bestimmt. Während bei den NaCl-Kontrollen nur 17% der gemessenen Epithelien eine Zellhöhe von 6,6 μ aufwiesen, der Rest der Zellen 3,3 μ, hatten bei den Rhodanid-SD 33% der Epithelien eine Zellhöhe von 9,9 μ, der Rest 6,6 μ. Bei den Rhodanid-SD waren die Kerne ebenfalls

etwas vergrößert. Das Verhältnis der kolloidarmen zu den kolloidreichen Follikeln betrug bei den Kontrollen 10:90, bei den Rhodanid-SD dagegen 42:58. Man kann daher das histologische Bild als eindeutig aktiviert bezeichnen.

In Anbetracht der signifikanten SD-Gewichtszunahme und der eindeutigen histologischen Aktivierung kann man wohl die nicht ganz gesicherte Stoffwechselsteigerung doch als solche anerkennen. Sie begann in dieser Versuchsreihe erst nach dem 16. Behandlungstag und hat am Ende des Versuches die stärkste Ausprägung.

6. Versuchsreihe vom 13. 6.—18. 6. 1950: KSCN 25 mg/100 g über einen Zeitraum von 6 Tagen.

Nähere Einzelheiten über den Versuch siehe Tab. 5.

Tabelle 5.

Dosis mg/100 g	Zahl der Ratten	Durchschnittl. *Anfangs—Endgewichte* der Ratten		Durchschnittl. SD-Gewicht mg/100 g	Durchschnittl. histologische Aktivität
0,9% NaCl 1 cm³	9	174	167	5,7	1,75
KSCN 25	8	165	174	8,9	1,9
MTU 5	9	158	168	10,45	3,0

Diese Versuchsreihe wurde ohne Stoffwechseluntersuchungen durchgeführt. Die SD-Gewichte sowohl der KSCN-Ratten ($P < 0{,}001$) als auch der MTU-Ratten ($P = 0{,}01—0{,}001$) waren signifikant gesteigert. Im histologischen Bild weisen nur die MTU-Ratten eine deutliche Aktivierung ihrer SD auf, während die KSCN-SD kaum aktiver als die Kontroll-SD sind (Rothländer).

7. Versuchsreihe vom 7. 6.—5. 7. 1950: NaSCN *25 mg/100 g über einen Zeitraum von 20 Tagen.*

Nähere Einzelheiten über den Versuch siehe Tab. 6.

Tabelle 6.

Dosis mg/100 g	Behandlungsdauer in Tagen	Zahl der Ratten am *Anfang* und *Ende* der Vers.-Reihe*		Durchschn. *Anfangs-* und *Endgewichte* der Ratten		*Erst.* u. *letzt.* Versuchstag d. Stoffw.-Untersuchung		Anzahl der Stoffw.-Unters. an versch. Tagen	Durchschnittl. SD-Gew.** mg/100 g	Durchschnittl. histol. Aktivität
0,9% NaCl 1 cm³	20	8	8	138	145	9	21	4	6,9	1,3
NaSCN 25	20	8	5	132	155	9	21	3	8,8	2,15
MTU 10	20	8	8	121	129	9	21	4	29,6	3,4
KJ 5	22	8	5	127	148	9	23	3	7,6	2,0
KJ 25	22	8	8	126	130	9	23	3	8,0	1,8

* die auf ihren Stoffwechsel untersucht wurden.

** gewonnen aus der Gesamtzahl der im Versuch befindlichen Ratten (10—20).

Auf Grund der widersprechenden Ergebnisse der früheren Versuchsreihen und der chemischen Verwandschaft von Rhodanid mit Jodid wurden in dieser Versuchsreihe außer einer NaCl- und MTU-Kontroll-Gruppe noch zwei Rattengruppen mitgeführt, denen KJ in verschieden hoher Dosis injiziert wurde. Der Stoffwechsel der Rhodanidgruppe zeigte während der 20tägigen Gabe eine signifikante Steigerung ($P < 0{,}001$), der Stoffwechsel der MTU-Gruppe eine fast signifikante Senkung ($P > 0{,}01$). Die 5 mg KJ-Gruppe weicht nicht von der NaCl-Gruppe

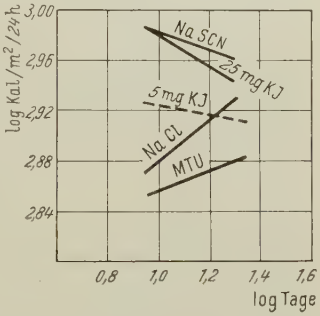


Abb. 7. Stoffwechselregressionslinien der NaCl-Kontrollgruppe ($Y = 2{,}72072 + 0{,}16115\ X$), der MTU-Gruppe ($Y = 2{,}78107 + 0{,}07498\ X$), der NaSCN-Gruppe ($Y = 3{,}04046 - 0{,}06203\ X$), der 5 mg KJ-Gruppe ($Y = 2{,}95835 - 0{,}035628\ X$) und der 25 mg KJ-Gruppe ($Y = 3{,}08876 - 0{,}11153\ X$). - - - - - bedeutet keine signifikante Abweichung der Stoffwechselhöhe, —— bedeutet signifikante Abweichung der Stoffwechselhöhe von der der NaCl-Kontrollgruppe. Abscisse: Behandlungsdauer in Tagen, Ordinate: Stoffwechselgröße in Kal/m²/24 Std, beide in logarithmischem Maßstab aufgetragen. Die Richtungen aller Stoffwechselgeraden weichen nicht signifikant von einander ab ($P = 0{,}2 - 0{,}05 - > 0{,}01$).

ab ($P > 0{,}2$), während der Stoffwechsel der 25 mg KJ-Gruppe fast signifikant ($P > 0{,}01$) gesteigert war (siehe Abb. 7). Die unter Zugrundelegung des strengen Maßstabes von $P = 0{,}01$ nicht eindeutig signifikante Senkung bzw. Steigerung des Stoffwechsels bei der MTU- bzw. 25 mg KJ-Gruppe wäre mit großer Wahrscheinlichkeit bei einer Vergrößerung der Zahl der Untersuchungen signifikant geworden.

Die SD-Gewichte der NaSCN-Ratten sind gegenüber denen der NaCl-Ratten signifikant gesteigert ($P = 0{,}01$—$0{,}001$), ebenso die der MTU-Ratten ($P < 0{,}001$). Die SD-Gewichte der 5 mg ebenso wie die der 25 mg KJ-Ratten sind gegenüber denen der NaCl-Ratten nicht signifikant erhöht.

Das histologische Bild zeigt neben der starken Aktivierung bei den MTU-SD bei den NaSCN-Drüsen allgemein eine leichte Aktivierung, die stärker als bei den beiden KJ-Gruppen ist (Rothländer). Die Grade der Aktivierung sind aus Tab. 6 zu ersehen.

8. Versuchsreihe vom 13. 9.—18. 10. 1950: KSCN 25 mg/100g über einen Zeitraum von 34 Tagen.

Der Vergleich der thyreostatischen Wirkung von Rhodanid mit der von MTU und Jodid wurde noch in einer zweiten Versuchsreihe durchgeführt, diesmal nach 34tägiger Gabe der Substanzen. Aus technischen Gründen konnten während dieses Versuches keine Stoffwechselbestimmungen gemacht werden. Um trotzdem einen gewissen Anhaltspunkt

über die Stoffwechselwirkung der Substanzen zu gewinnen, wurden am Ende des Versuches von jeder Gruppe an einem Tage 4—5 Stoffwechselwerte bestimmt, die mittels der Varianzanalyse ausgewertet wurden. Dieses Vorgehen setzt die Annahme voraus, daß allen Gruppen ein einheitliches Tiermaterial zugrunde liegt. Da diese Einheitlichkeit bei allen vorherigen Gruppen vorhanden war (Vorversuche mittels der Varianzanalyse geprüft), ist es wohl auch erlaubt, sie für diese Versuchsreihe als gegeben anzunehmen. Weiterhin gibt dieses Vorgehen keine Auskunft über das Stoffwechselverhalten während der Versuchsdauer. Kleine Unterschiede können außerdem wegen der zu kleinen Zahl der zur statistischen Auswertung zur Verfügung stehenden Stoffwechselwerte nicht gesichert werden. Man erhält also nur einen groben Anhaltspunkt über die Stoffwechselwirkung der verschiedenen Substanzen.

Nähere Einzelheiten über den Versuch siehe Tab. 7.

Tabelle 7.

Dosis mg/100 g	Zahl der Ratten am *Anf.* u. *Ende* d. Versuches		Behandlungsdauer in Tagen	Durchschn. *Anfangs-* u. *End*gewicht der Ratten		Stichprob. mäßige Stw.-Werte Kal/m²/24 Std	Durchschnittl. *SD-* u. *HVL*-Gewicht mg/100 g		Zellhöhe Kerngröße Zahlen der mit dem Okularmikrometer ausgezählten Zellen in E*		Follikelkolloid arm	rei in %
0,9 % NaCl 1 cm³	20	15	34	114	146	985	5,76	3,74	16×2 359×1	375×1	6	94
KSCN 25	20	15	34	101	138	978	7,7	4,16	203×2 172×1	375×1	47,1	52
MTU 10	19	15	34	98	129	704	27,2	4,5	190×4 185×3	375×2	100	0
KJ 5	20	15	35	110	124	890	7,5	4,4	30×2 345×1	375×1	3	97
KJ 25	20	15	35	108	125	839	8,1	4,0	174×2 201×1	375×1	47	53

* 1 Okularmikrometereinheit (E) entsprach 3,3 μ.

Ein Vergleich der stichprobenartig erhobenen Stoffwechselwerte ergab, daß die MTU-Werte eine signifikante ($P < 0{,}001$), die 25 mg KJ-Stoffwechselwerte eine fast signifikante Stoffwechselsenkung ($P > 0{,}01$) gegenüber den NaCl-Werten zeigten, während die KSCN-Werte die gleichen waren wie die NaCl-Werte; die 5 mg KJ-Werte waren zwar im Mittel um 100 Kal. gesenkt, die statistische Auswertung ergab jedoch keinen Anhalt für einen gesicherten Unterschied ($P < 0{,}05$). Mit diesen Ergebnissen stimmen die SD-Gewichte gut überein. Die MTU-SD ($P < 0{,}001$) waren ebenso wie die 25 mg KJ-SD ($P = 0{,}01$—$0{,}001$) signifikant schwerer als die NaCl-Drüsen, während die KSCN- und 5 mg KJ-SD keine Abweichung ergaben (beide $P = 0{,}2$—$0{,}05$). Die

histologische Auswertung (durch W. Christmann wie bei Versuchsreihe 5) zeigt für die MTU-SD die erwartete starke Aktivierung; die KSCN-SD zeigen sowohl in der Zellhöhe wie im Verhältnis der kolloidarmen zu den kolloidreichen SD deutliche Verschiebungen gegenüber den NaCl-Kontrollen. Die 5 mg-KJ-SD unterscheiden sich histologisch kaum von den Kontrolltieren, während die 25 mg KJ-SD innerhalb der Fehlerbreite dieselbe Aktivierung aufweisen wie die KSCN-SD (siehe Tab. 7).

Die Varianzanalyse der HVL-Gewichte ergab zwischen den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

9. Versuchsreihe vom 26. 6.—13. 7. 1950: KSCN 12 mg/100 g über einen Zeitraum von 18 Tagen.

Nähere Einzelheiten über den Versuch siehe Tab. 8.

Tabelle 8.

Dosis mg/100 g	Behandlungsdauer in Tagen	Durchschnittl. *Anfangs-* u. *End-*gewichte der Ratten		Zahl der Ratten bei Versuchsende	Durchschnittl. SD-Gewicht mg/100 g	Durchschnittl. histol. Aktivität
0,9% NaCl 1 cm³	18	182	180	10	5,9	2,3
KSCN 12	18	173	182	9	5,6	2,3
MTU 2,5	18	180	181	9	9,0	3,2

Stoffwechselversuche wurden bei dieser Versuchsreihe nicht durchgeführt. Das durchschnittliche SD-Gewicht der Rhodan-SD entspricht völlig dem der NaCl-Kontrollen, während die SD-Gewichtszunahme nach MTU-Gabe trotz der kleinen Dosis signifikant ist ($P < 0{,}001$). Das histologische Bild stimmt mit dem SD-Gewicht völlig überein: die KSCN-SD entsprechen denen der Kontrollen, während nach MTU-Gabe das gewohnte Bild einer starken Aktivierung zu sehen ist (Rothländer). Lediglich eine KSCN-SD weist hohes Epithel mit Strängen und farblosem Kolloid auf.

Diskussion.

Überblickt man die Ergebnisse der 9 Versuchsreihen, in denen die tägliche Rhodanidgabe zwischen 12 und 50 mg/100 g Ratte und die Versuchsdauer zwischen 6 und 63 Tagen variiert wurden, kann man folgende Ergebnisse zusammenstellen:

Stoffwechsel (7 Versuchsreihen):

a) signifikante Steigerung in 3 Versuchsreihen (11—63 Tage dauernde Versuche) bei einer täglichen Dosis von 25—50 mg/100 g (1., 5. und 7. Versuchsreihe);

b) kein Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe in 3 Versuchsreihen (16—34 Tage dauernde Versuche) bei einer täglichen Dosis von 25—50 mg/100 g (2., 4. und 8. Versuchsreihe);

c) signifikante Senkung in einer Versuchsreihe (22 Tage dauernder Versuch) bei einer täglichen Dosis von 50 mg/100 g (3. Versuchsreihe):

SD-Gewicht (8 Versuchsreihen):

a) signifikante Steigerung in 4 Versuchsreihen (3., 5., 6. und 7. Versuchsreihe);

b) kein Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe in 4 Versuchsreihen (2., 4., 8. und 9. Versuchsreihe).

Histologisches Bild (8 Versuchsreihen):

a) Aktivierung in 4 Versuchsreihen (3., 5., 7. und 8. Versuchsreihe);

b) keine Aktivierung gegenüber den Kontrollgruppen in 4 Versuchsreihen (2., 4., 6. und 9. Versuchsreihe).

Ein Vergleich der drei auf verschiedene Art gewonnenen Befunde zeigt für die einzelnen Versuchsreihen ungefähre Übereinstimmung. Der KSCN-SD-Gewichtszunahme entspricht in zwei Versuchsreihen eine Stoffwechselsteigerung, in einer Versuchsreihe eine Stoffwechselsenkung. Bei den Versuchsreihen 6 und 8 besteht in dem Verhalten der SD-Gewichte und des histologischen Bildes keine volle Parallelität. In Versuchsreihe 6 entspricht das histologische Bild nicht der SD-Gewichtszunahme, in Versuchsreihe 8 das SD-Gewicht nicht ganz der histologischen Aktivierung. Eine solche Uneinheitlichkeit in den Ergebnissen wurde auch schon von anderen Autoren beschrieben. Das funktionelle Geschehen in der SD ist so komplex, daß man aus der Veränderung einer Teilfunktion nicht mit Sicherheit auf die anderer rückschließen kann.

Sichere Anhaltspunkte zur Erklärung der uneinheitlichen Wirkung von Rhodan in den verschiedenen Versuchsreihen können wir nicht erbringen. Die in den Versuchen verwendeten Ratten waren zwar verschiedener Herkunft, ihre Lebensbedingungen jedoch ähnlich. Einen jahreszeitlich bedingten Einfluß konnten wir nicht feststellen. Ebenso sahen wir keinen Zusammenhang zwischen dem Ausgangszustand der SD und der Art der Rhodanwirkung. Die zum Vergleich der Rhodan- und Jodwirkung durchgeführten Versuchsreihen 7 und 8 zeigten für das SD-Gewicht und das histologische Bild der mit Rhodan und 25 mg/100 g Jod behandelten Ratten weitgehend übereinstimmende Ergebnisse. Auch die Stoffwechselwerte in Versuchsreihe 7 gleichen einander, während in Versuchsreihe 8 (längere Versuchsdauer) die allerdings nur stichprobenartig ermittelten Rhodanwerte höher liegen. Die Ergebnisse dieser beiden Versuchsreihen scheinen die ähnliche Wirkung von Jodid und Rhodanid zu bestätigen.

Rhodan gilt als reines Thyreostatikum. Diese Auffassung stützt sich auf die beobachtete SD-Gewichtszunahme, die histologischen Veränderungen und vereinzelt in der Literatur beschriebene Stoffwechselsenkungen. Die vorliegenden Befunde zeigen jedoch, daß im Gegensatz zu den Thioharnstoff- und Thiouracilabkömmlingen nach Rhodangabe auch Stoffwechselsteigerungen möglich sind. Eine Erklärung dieser Befunde kann vorläufig nicht gegeben werden.

Eine Unzulänglichkeit der üblichen Erklärung des Wirkungsmechanismus von Rhodan liegt ferner in der Tatsache, daß die Hemmung des Jodkonzentrierungsvermögens der SD nur nach kurzfristiger (meist einmaliger) Gabe von Rhodan gesehen wurde. Williams, Jaffe u. Taylor[32] sahen ebenso wie Rawson, Tannheimer u. Peacock[33], daß nach 17—19tägiger chronischer Rhodanidgabe die Aufnahme von radioaktivem Jod nicht mehr vermindert ist (wie nach einmaliger Gabe), sondern die Höhe unbehandelter Kontrolltiere erreicht, ja „eher eine vergrößerte als verminderte Aufnahme des isotopen Elementes erscheint"[32]. Diese den früher zitierten Befunden nach einmaliger Rhodangabe widersprechenden Ergebnisse weisen darauf hin, daß die Rhodanwirkung im Gegensatz zu der MTU-Wirkung nicht einheitlich ist. Rhodanid kann die Jodidaufnahme durch die SD sowohl hemmen als auch fördern. In dem Experiment von Williams u. Mitarb. war anscheinend ein „Balancezustand" dieser beiden Verhaltensweisen eingetreten, und die Höhe der Jodidaufnahme entsprach genau der unbehandelter Kontrolltiere. Im Lichte dieser verschiedenen Verhaltensweisen gegenüber der J^{131}-Aufnahme verlieren vielleicht auch die sich scheinbar widersprechenden Stoffwechsel- und histologischen Befunde der einzelnen in dieser Arbeit beschriebenen Rhodanversuche ihre Unerklärbarkeit. Der vermehrten Jodaufnahme könnte eine Stoffwechselsteigerung, der gegenüber den Kontrolltieren unbeeinflußten Jodaufnahme ein mit den Kontrolltieren übereinstimmender Stoffwechsel und der nur einmal sicher nachgewiesenen Stoffwechsel-Senkung könnte ausnahmsweise auch bei längerer Rhodangabe eine verminderte Jodaufnahme durch die SD entsprechen.

Selbst wenn diese oder eine ähnliche Analogie zwischen Stoffwechsel- und histologischem Verhalten einerseits und der J^{131}-Aufnahme andererseits in weiteren Versuchen nachgewiesen werden könnte, wäre damit die Ursache dieser verschiedenen Wirkungsweise noch nicht endgültig erklärbar. Jedoch drängt sich eine Analogie zum verwandten Jod auf, das auch eine doppelte Wirkung auf die SD zeigt: zuerst Ruhigstellung (Plummer), dann Aktivierung.

Zusammenfassung.

1. Die Wirkung von Kalium- und Natriumrhodanid auf den Gasstoffwechsel, die Schilddrüsengewichtszunahme und das histologische Bild wurden in 9 langfristigen (6—63 Tage) Versuchsreihen bei verschiedener Höhe der Rhodandosis an weißen Ratten untersucht. Alle Ergebnisse wurden statistisch ausgewertet.

2. In 3 Versuchsreihen wurde eine signifikante Stoffwechselsteigerung gegenüber den Kontrolltieren festgestellt, in 3 Versuchsreihen war keine Veränderung des Stoffwechsels nachzuweisen, während nur in

1 Versuchsreihe eine signifikante Stoffwechselsenkung auftrat. Die verschiedenartigen Ergebnisse können weder durch die Höhe der Dosis noch durch die Versuchsdauer erklärt werden, widersprechen jedoch der allgemeinen Auffassung von der rein thyreostatischen Wirkung des Rhodanid.

3. Das Schilddrüsengewicht war in 4 Versuchsreihen nach Rhodanidgabe signifikant gesteigert, in 4 Versuchsreihen trat keine Veränderung auf.

4. Die histologischen Veränderungen im Sinne einer Aktivierung gingen mit wenigen Ausnahmen mit dem Verhalten des Stoffwechsels und des Schilddrüsengewichtes parallel.

5. Zwei Versuchsreihen, die dem Vergleich der Jod- und Rhodanwirkung dienten, zeigten sowohl histologisch und in bezug auf das SD-Gewicht als auch stoffwechselmäßig weitgehende Übereinstimmung zwischen der Jod- und Rhodanwirkung.

6. Zur Erklärung der verschiedenartigen Rhodanidwirkung wird eine Parallelität zwischen verminderter bzw. vermehrter J^{131}-Aufnahme und Stoffwechselsenkung bzw. Stoffwechselsteigerung nach Rhodangabe vermutet.

7. Auf eine ähnliche doppelte Wirkung des verwandten Jodid wird hingewiesen.

Literatur.

[1] Barker, M. H.: J. Amer. Med. Assoc. **106**, 762 (1936); zit. nach Pitt-Rivers, R.: Physiologic. Rev. **30**, 194 (1950). — [2] Barker, M. H., Lindberg and Wald: J. Amer. Med. Assoc. **117**, 1591 (1941); zit. nach Lever, J.: Experientia **7**, 201, (1951). [3] Kohlbacher, Foulger and Rose: J. Amer. Med. Assoc. **122**, 1072 (1943); zit. nach F. Hüter: Pharmacie **5**, 249 (1950). — [4] Rawson, R., S. Hertz and Means: Ann. Int. Med. **19**, 829 (1943); zit. nach Lever, J.: Experientia **7**, 201 (1951). — [5] Burgsdorf, J. W.: Therap. Arch. (russ.) **20**, 22 (1948); zit. nach Chem. Zbl. **120**, 814 (1949). — [6] Astwood, E. B.: J. of Pharmacol. **78**, 79 (1943). — [7] Huf, E., u. F. Auffahrt: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **206**, 394 (1949). — [8] Studer, A.: Experientia **5**, 362 (1949). — [9] Sadhu, D. P.: Amer. J. Physiol. **152**, 150 (1948). — [10] Franklin, A. L., I. L. Chaikoff and S. R. Lerner: J. of Biol. Chem. **153**, 151 (1944); zit. nach M. S. Raben: Endocrinol. **45**, 296 (1949). — [11] Wolff, J., I. L. Chaikoff, A. Taurog and L. Rubin: Endocrinology **39**, 140 (1946); zit. nach Excerpta med. Endocrinol. **1**, 124 (1947). — [12] Astwood, E. B., and A. Bissell: Endocrinology **34**, 282 (1944); zit. nach Vanderlaan and Vanderlaan: Endocrinology **40**, 403 (1947). — [13] Astwood, E. B.: Harvey Lectures **40**, 195 (1944—45); zit. nach Vanderlaan and Vanderlaan: Endocrinology **40**, 403 (1947). — [14] Vanderlaan, W. P., and A. Bissell: Endocrinology **39**, 157 (1946); zit. nach Vanderlaan and Vanderlaan: Endocrinology **40**, 403 (1947). — [15] Vanderlaan, J. E., and Vanderlaan, W. P.: Endocrinology **40**, 403 (1947). — [16] Raben, M. S.: Endocrinology **45**, 296 (1949). — [17] Pauli, W.: Münch. med. Wschr. **50**, 153 (1903). — [18] Astwood, E. B.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **50**, 419 (1949); zit. nach Pitt-Rivers: Physiologic. Rev. **30**, 194 (1950). — [19] Wood, J. L., and E. F. Williams jr.: J. of

Biol. Chem. **177**, 59 (1949). — [20] Easterwood, M., and J. L. Wood: Federation Proc. **8**, 195 (1949); zit. nach Pitt-Rivers: Physiologic. Rev. **30**, 194. (1950). — [21] Höl-scher, B., u. G. Pöppinghaus: Pflügers Arch. **251**, 88 (1949). [22] Förster, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 270 (1952). — [23] Christmann, G.: Inaugural-Dissertation, Mainz 1953. — [24] Hecht, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **187**, 147 (1937). — [25] Winkler, Cl.: zit. nach Jander-Jahr: Maßanalyse, Sammlung Göschen (1943). — [26] Herrington, L. P.: Amer. J. Physiol. **129**, 123 (1940). — [27] Lundholm, L.: Acta Physiol. Scand. **18**, 259 (1949). — [28] Bahner, F.: Pflügers Arch. **250**, 521 (1948). — [29] Snedecor, G. W.: Statistical methods, 4. Aufl. Iowa 1946. — [30] Rothländer, H.: Inaugural-Diss. Mainz 1951. — [31] Muscholl, E.: Inaugural-Diss. Mainz 1952. — [32] Williams, R. H., H. Jaffe and J. A. Taylor: Amer. J. Med. Sci. **219**, 7 (1950). [33] Rawson, R. W., J. F. Tannheimer and W. Peacock: Endocrinology **34**, 245 (1944).

Dr. W. Förster, Gewerbehyg.-Pharmakol. Inst. der BASF, Ludwigshafen/Rh.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 430—439 (1953).

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg
(Direktor: Prof. Dr. L. Heilmeyer).

Über die Beeinflussung der Ergotamingangrän bei der Ratte durch Butylsympatol(-Vasculat).

Von
W. Beiglböck.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. September 1952.)

Bei wenigen Medikamenten sind wir in der glücklichen Lage, so weitgehend geklärte Beziehungen zwischen der chemischen Konstitution und der pharmakologischen Wirksamkeit zu kennen wie bei den Körpern der Adrenalinreihe. Die neueren Forschungen über das Arterenol (vgl. Holtz[1]) zeigen, wie schon die Einführung eines Alkylradikals in der Seitenkette, nämlich die Methylierung der Aminogruppe zum Adrenalin, außerordentliche Konsequenzen in der biologischen Auswirkung der beiden Hormone nach sich zieht. Die Schule Dales[2] war es vor allem, die in ausgedehnten Untersuchungen versucht hat, diejenigen Stellen des Moleküls ausfindig zu machen, deren chemische Veränderungen von einer Veränderung der pharmakologischen Eigenschaften gefolgt ist. Daraus und aus den Arbeiten von Chen[3] und Schaumann[4] ergab sich, daß einmal die Zahl und Stellung der phenolischen OH-Gruppen und zum zweiten Veränderungen der Seitenkette von grundsätzlicher Bedeutung sind. Auf Grund dieser Erkenntnisse wurden eine Reihe von Abkömmlingen des Adrenalins und des Ephedrins hergestellt und in die Therapie eingeführt, die sich, wie etwa das Sympatol und Effortil, einen gesicherten Platz in der Behandlung von Kollapszuständen errungen haben. Es ist das Verdienst der Trendelenburgschen Schule[5–7], die Pharmakologie dieser Körper systematisch untersucht und geklärt zu haben.

Ausgehend vom Sympatol (p-Oxyphenyl-Äthanolmethylamin) und dem Adrianol (dem entsprechenden m-Oxyphenyl) wurden nun eine Reihe weiterer Körper gewonnen, die durch Veränderung an der Seitenkette, nämlich Substituierung des Methyls an der Aminogruppe durch längere (n-)Alkylradikale, pharmakologisch weitgehend differente Mittel darstellen. Unna[8] hat in ausgedehnten Untersuchungen über die Wirksamkeit dieser Substanzen im Tierversuch berichtet. Dabei ergab sich, daß —

grundsätzlich — mit Zunahme der Länge der Seitenkette die gefäßverengernde und blutdrucksteigernde Wirkung abnahm, ja sich, besonders bei den Butylgruppen, sogar ins Gegenteil verkehrte.

Vor allem im Butylsympatol (p-Oxyphenyläthanol-butylamin), das als „Vasculat" (Fa. Boehringer Sohn, Ingelheim) im Handel ist, wurde eine stark wirksame gefäßerweiternde Verbindung gefunden, die sich bei Hypertonien und insbesondere bei peripheren Durchblutungsstörungen außerordentlich bewährt hat und über deren klinische Erprobung und Wirkung am Menschen bereits eine ganze Reihe von Berichten vorliegen (Duesberg[9], Spitzbarth[10], Kestermann und Wendelburg[11], Hauss und Kreuziger[12], Kreuziger und Veit[13], Mechelke und Heinzel[14], Kraus und Mielke[15], Becker und Kaiser[16], Linden[17], Krug und Peper[18], Zeman und Lüssenhop[19], Friese[20], Marx[21], u. a.). Unna[8] fand, daß das Butylsympatol etwa dreimal giftiger ist als das Sympatol: 0,2 –0,4 mg/g töteten weiße Mäuse, die an Atmungslähmung zugrunde gingen. Nicht letale toxische Dosen bewirkten bei ihnen Unruhe, Atmungsbeschleunigung und tonisch-klonische Krämpfe, denen aber eine rasche Erholung folgte. An dekapitierten Katzen ließ sich stets eine Blutdrucksenkung feststellen von ziemlich langer Dauer und etwa proportional der gegebenen Dosis. Die Blutdrucksenkung war auch noch nach Ausschaltung aller nervösen Zentren nachweisbar und wurde daher als unmittelbare periphere Wirkung auf die Gefäßmuskulatur aufgefaßt. Vasculat war auch imstande, die Gefäßverengerung durch das Äthyladrianol aufzuheben. Wie die anderen oben genannten Sympatolderivate zeigte auch das Butylsympatol eine günstige Wirkung auf das (Pernocton-) geschädigte Herz, die relativ langsam eintritt und sich trotz unveränderter Frequenz in einer Steigerung des Minutenvolumens ausdrückt. Im Gegensatz aber zu den anderen Körpern dieser Reihe gelang es, durch Überdosierung (wiederholte größere Gaben) von Butylsympatol eine Verschlechterung der Herzleistung zu erzwingen, die nicht einmal durch Adrenalin zu beseitigen war. Am entnervten Herzen steigert es die Frequenz nicht. Für die Gefäßwirkung des Vasculats ist bedeutsam, daß es auch sicher primär muskulärbedingte Verengerungen, wie durch Pituitrin, zu lösen vermochte.

Am gesunden Menschen zeigten Mechelke und Heinzel[14], daß es, neben einer Mehrdurchblutung der Peripherie, Tachycardie und Erhöhung des systolischen Drucks bewirkt (wohl Folgen einer durch die Senkung des diastolischen Drucks und die Verminderung des peripheren Widerstandes ausgelösten Pressoreceptorenreizung) sowie Zunahme des Schlag- und Minutenvolumens im Sinne einer positiv inotropen Wirkung. Hauss und Kreuziger[12], wie auch Kreuziger und Veit[13] unterzogen Hypertoniker genauen Kreislaufanalysen und kamen zu dem Ergebnis, daß sich die essentielle Hypertonie in der Regel anders verhielt als die maligne Sklerose. Die erstere reagierte mit Abnahme des systolischen und diastolischen Blutdrucks, Abnahme des Schlagvolumens und geringer Herabsetzung des elastischen Widerstandes. Die maligne Sklerose mit Senkung des Blutdrucks (mehr des diastolischen als des systolischen), Steigerung der Pulsfrequenz, Zunahme des Schlag- und Minutenvolumens und „starker Abnahme der elastischen und peripheren Widerstände". Über die Wirkung beim operativen „Spannungskollaps" äußern sich Krauss und Mielke[15] folgendermaßen: „Bei Zentralisationszuständen ohne Volumsverlust des Kreislaufes durchbricht Vasculat innerhalb kurzer Zeit diese vasokonstriktorische Zwangstellung und mobilisiert die in der Peripherie deponierten Blutmengen."

Hinsichtlich der Erweiterung peripherer Gefäße bei funktionell und organisch bedingten Durchblutungsstörungen, so bei der Raynaudschen Krankheit, bei der Endangiitis obliterans u. a., teilten Becker und Kaiser[16] sehr ermutigende Erfolge

mit und unterbauten sie, ebenso wie Spitzbarth und Merz[10] und Zeman und Lüssenhop[19] durch zahlreiche klinische Beobachtungen und exakte Kreislaufuntersuchungen.

Es erschien uns nun von Interesse, an einem Modellversuch die Wirkung des Vasculats auf periphere, künstlich gesetzte Durchblutungsstörungen zu prüfen. Dazu schien uns das von Ratschow[22] ausgebaute Experiment der Ergotingangrän des Rattenschwanzes ein geeignetes Versuchsobjekt. Das Ergotamin ist bekanntlich ein schweres Gefäßgift, das bei direktem Angriff auf die vasculäre Muskulatur zu Durchblutungsdrosselung, angiospastischen Gliederschmerzen und schließlich durch Schädigung des Endothels, vor allem in den Capillaren, zu Nekrosen der periphersten Körperteile führt (Zehen-, Finger-, Nasengangrän beim Menschen), also zu dem als „Ergotismus gangraenosus" bekannten Symptomkomenplex. Im Tierversuch indes gelang es nicht ohne weiteres, eine solche Ergotingangrän zu erzeugen. Man mußte dazu in der Regel sehr hohe Dosen, die ins toxische Bereich gehen, anwenden. (Rothlin[23], Loewe und Lenke[24].) Mit solchen Dosen wurde auch in der Folgezeit gearbeitet, wenn man gefäßerweiternde Mittel (Hormone) an diesem Modell prüfen wollte (McGreath[25] u. a.), bis Ratschow und Steckner[22] zeigten, daß man auch mit kleineren Ergotinmengen zum Ziel kommt und sich diese gar nicht wesentlich — hinsichtlich ihrer Gefäßwirkung — von den Riesendosen die bisher verwendet wurden, unterschieden. Sie gaben täglich $^1/_4$ mg Ergotamin bis zu einer Gesamtmenge von 2,5 mg und konnten damit sehr regelmäßig die Schwanzgangrän der Ratten hervorrufen. Zu 100%igen Resultaten kamen die Autoren aber erst, wenn sie diese Spritzen mit ganz kleinen Adrenalindosen kombinierten (0,005 cm³ s. c.). Dann wurde nicht nur in allen Fällen eine Gangrän ausgelöst, sondern sie trat auch früher und weit intensiver in Erscheinung als mit Ergotamin allein, wurden auch noch so große Dosen davon gegeben. Adrenalin ist für sich, auch in höherer Konzentration, völlig unwirksam.

Ratschow kam bei der Analyse der Ergotaminwirkung auf die Gefäße zu folgenden Erwägungen: als Sympathicuslähmer müßte das Ergotamin die großen und mittleren Gefäße erweitern, als krampfauslösendes Gift für die Gefäßmuskulatur sie verengern. An den großen Gefäßen scheinen sich nun diese beiden Effekte die Waage zu halten, es kommt zu keiner sichtbaren Weiteschwankung. Da aber beim Ergotismus die Capillardurchblutung, wie gesichert ist, stark abnimmt, kann sich die krampfauslösende Wirkung nur auf die Arteriolen und Praearteriolen (von Ratschow als „Vorflutgefäße" zusammengefaßt) auswirken. An dieser Stelle greifen vor allem humorale, weniger nervöse Regulationen ein. So wird erklärlich, warum kleinste Adrenalindosen (Engstellung der Arteriolen) den Ergotamineffekt unterstützen. Histologisch folgten auf

das Stadium der Arterien- und Arteriolenkontraktion Bilder der Stase, dann die von Intimaproliferationen und schließlich, als Folge der Zunahme letzterer, Gefäßverschlüsse mit Thrombenbildung (siehe auch McGrath[25]).

Von gefäßaktiven Stoffen waren nur wenige imstande, diese Ergotamingangrän zu verhindern oder zu mildern: Sexualhormone wirkten nur bei Verwendung von Ergotamin allein, nicht aber gegen die Kombination mit Adrenalin, Diäthyldioxystilben gegen beide. Azethylcholin wirkt nur, wenn es unmittelbar in die Stellen injiziert wurde, die Schaden genommen hatten, sehr viel besser, wenn es noch mit Vitamin B_1 zusammen gegeben wurde. In dieser Kombination schützte es nicht nur gegen Ergotamin allein, sondern auch gegen Ergotamin + Adrenalin, wenigstens bis zu einem gewissen Grade. Unwirksam waren Histamin und Vasopressin, Atropin und das (eben nur die größeren Gefäße erweiternde) Eupaverin, selbst in großen Dosen.

Greift, wie nach den oben berichteten Versuchen Unnas[8] anzunehmen war, das Vasculat direkt die Gefäßmuskulatur an und erzwingt es so eine Erweiterung, mußte man erwarten, daß es imstande ist, der Ergotamingangrän gegenüber einen gewissen Schutz zu gewähren, insbesondere auch der Kombination mit Adrenalin gegenüber, da es ja als ein Gegenspieler gerade des letzteren in vielen seiner pharmakologischen Eigenschaften erkannt wurde.

Unsere *Versuchsanordnung* hielt sich eng an die von Ratschow und Steckner[22] angegebene: *Gruppe 1:* ♂ weiße Ratten von 150–170 g Gewicht wurden auf gleichmäßige Kost gesetzt und erhielten 0,5 mg Ergotamin, kombiniert mit 0,005 mg Adrenalin unter die Rückenhaut, nahe der Schwanzwurzel, gespritzt. Die ersten beiden Injektionen wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen gegeben, dann ein Tag Pause, dann wieder zwei Tage die Injektion, dann ein Tag Pause und schließlich am folgenden Tag die letzte, so daß insgesamt fünf Injektionen mit zusammen 2,5 mg Ergotamin (Gynergen Sandoz) verabreicht wurden. Zwanzig Tiere wurden für diesen Versuch verwendet.

Eine *zweite Gruppe* gleichschwerer Ratten erhielt zusätzlich *jeden* Tag, auch über die Gynergenspritzen hinaus, Vasculat, und zwar in einer *Dosierung, die etwa der beim Menschen verwendeten* entsprach, nämlich 0,12 mg zweimal täglich subcutan in die Bauchhaut, also nicht lokal (in die Schwanzwurzel), injiziert. Insgesamt 15 Tiere wurden verwendet.

Eine *dritte Gruppe* ebensolcher Ratten erhielt Ergotamin und Adrenalin in der gleichen Art und Dosis wie Gruppe 1 und 2, dazu aber sehr hohe Vasculatdosen, die an das toxische Bereich herangingen. Tatsächlich zeigten auch die meisten Tiere vorübergehend Schockzustände und Atmungsstörungen, ohne, mit einer Ausnahme, Krämpfe zu entwickeln. Gegeben wurden zweimal täglich 2 mg s. c., das würde, bezogen auf die letale Dosis bei Mäusen, etwa $^1/_{20}$ der letalen Rattendosis entsprechen und, nach Gewicht umgerechnet, einer Menge von 1 g, d. h. 20 Ampullen pro Injektion, am Menschen.

Das *Ergebnis* unserer Versuche war nun das folgende: es ist uns nicht, wie Ratschow, gelungen, in der Gruppe 1 tatsächlich 100% Nekrosen zu erzeugen, auch war die Ausdehnung nicht so groß, wie sie Ratschow berichtet und durch die Abbildungen in seiner Arbeit belegt. Es mag das entweder daran liegen, daß unsere Rattenstämme resistenter sind

als die von ihm verwendeten, oder daran, daß wir jeweils zweimal einen Tag Pause in der Ergotamin-Adrenalin-Verabreichung einlegten. Aber immerhin kamen auch in unseren Versuchen so viele und so schwere Durchblutungsstörungen zur Entwicklung, daß, wenn man die deutlichen Cyanosen dazu rechnet, nicht viel weniger positive Ausschläge resultieren.

Die Veränderungen des Schwanzendes setzen meist nach wenigen Injektionen, oft auch schon nach der ersten, ein und bestehen zunächst in einer deutlichen Blässe. Dann tritt, bei verschiedenen Tieren verschieden stark, eine mehr rötliche oder, was schlimmer ist, eine blaue bis blauschwärzliche Verfärbung auf, manchmal durch anämische Stellen fleckweise unterbrochen, und schließlich entwickelt sich eine ganz trockene oder eine mehr entzündlich-feuchte Gangrän, der die Abstoßung des nekrotischen Teiles mit verschieden scharfer und verschieden rasch heilender Demarkationstelle folgt*.

In der Tab. 1 ist nun verzeichnet, wie viele Tiere und an welchen Tagen sie deutliche Veränderungen aufweisen. Nicht alle, die eine Cyanose zeigten, vor allem solche, bei denen sie erst nach den letzten Spritzen

Tabelle 1.

Gruppe	1.		2.		3.		4.		5.		6.		7.		8.		9.		10.		11.	
	G.	C.	G.	C.	G.	C.	G.	C.	G.	C.	G.	C.	G.	C.	G.	C.	G.	C.	G.	C.	G.	C.
I. 20 Tiere			1	5	1	5	3	4	4	5	5	8	8	6	9	7	10	7	11	7	12	6
II. 15 Tiere								3		4		5	2	4	3	3	3	3	5	1	5	1
III. 15 Tiere			1	6	2	6	4	7	5	6	7	4	11	1	11	2	12	2	13	1	13	1

Gruppe	ohne Veränderung geblieben	Ausdehnung der Gangrän (u. Cyanose) bezogen auf die Schwanzlänge				
		½ u. mehr	⅓	Schw. Spitze	rückgeb. Cyanose	rückgeb. schw. Cyanose
I. 20 Tiere	2 (10%)	∅	3 (15%)	9 (45%)	6 (30%)	∅
II. 15 Tiere	9 (60%)	∅	∅	5 (33,3%)	1 (6,6%)	2 (13,3%)
III. 15 Tiere	1 (6,6%)	5 (33,3%)	5 (33,3%)	[3 (20,0%)] 3 (20%)	1 (6,6%)	∅

oberste Ziffern: Versuchstage; G: Gangrän; C: Cyanose.

auftrat, bekamen deswegen auch eine Gangrän. Daher ist es notwendig, beide Symptome getrennt zu registrieren. Es ergibt sich daraus, daß von den 20 Versuchstieren der Gruppe I nur 2 den ganzen Versuch über ohne makroskopisch sichtbare Durchblutungsstörungen blieben (= 10%), daß 6 (= 30%) eine Cyanose entwickelten, die sich nach Beendigung der Gynergenapplikation allmählich wieder, ohne zu Gewebsabstoßungen

* Bei einzelnen Tieren zeigten sich eigentümlich knotige Auftreibungen an ein oder mehreren Stellen des Schwanzes, wohl Gelenken entsprechend (siehe Abbildung).

zu führen, zurückbildete, während 12 Tiere (= 60%) eine Schwanznekrose bekamen, wobei bei 9 Tieren nur die Spitze in mehr oder weniger großer Ausdehnung abgestoßen wurde, bei 3 etwa ein gutes Drittel des Schwanzes. Insgesamt zeigten also 90% von den 20 Tieren schwere Durchblutungsstörungen.

In der zweiten Gruppe, die mit kleinen Vasculatdosen behandelt ist, entwickelte sich die Durchblutungsstörung, wie Tab. 1 zeigt, langsamer, sie betraf viel weniger Tiere und führte im Endergebnis nicht zu so ausgedehnten Nekrosen wie in der Gruppe 1. Betroffen wurde in der Regel nur die äußerste Spitze des Schwanzes. Am auffälligsten aber war, daß nach Weiterbehandlung mit Vasculat sich bei zwei Tieren, wo vorwiegend oberflächliche Gewebsteile anscheinend von der Schädigung ergriffen waren, sich wieder eine weitgehende Restitutio ad integrum herstellte. Im ganzen zeigt sich folgendes Bild: von den 15 Tieren blieben 9, d. i. 60% während der ganzen Versuchsdauer ohne jede sichtbare Durchblutungsstörung, 5 entwickelten eine Spitzengangrän (33%), wovon sich aber 2 so weitgehend zurückbildeten, daß nur bei 3 Tieren, d. i. 20% ein endgültiger Gewebsverlust zurückblieb und bei 2 von ihnen war ganz deutlich eine bessere Heilungstendenz der Wundfläche zu erkennen, als bei den Kontrolltieren. Eines zeigte eine stärkere Cyanose, die sich nach Absetzen des Gynergens allmählich wieder verlor, so daß also insgesamt in dieser Gruppe 6 Tiere während des Versuches makroskopisch sichtbare Durchblutungsstörungen gezeigt hatten, d. i. 40% gegenüber 90% in der Kontrollgruppe.

In der *dritten Gruppe*, die mit den sehr großen (toxischen) Vasculatdosen behandelt waren, entwickelt sich das Bild nun viel ungünstiger. Erstens einmal treten die Veränderungen überhaupt früher auf, zweitens schreitet die Cyanose viel rascher zur Gangrän fort und bildet sich nur bei einem der Tiere nochmals zurück, und drittens erreicht diese Gangrän unverhältnismäßig größere Ausdehnung, so daß schließlich bei 5 Tieren die Hälfte des Schwanzes oder mehr, bei 5 etwa ein Drittel und nur bei dreien die Spitze allein abgestoßen wird. Ein einziges Tier (6,6%) blieb während des ganzen Versuches ohne Veränderungen, 86,4% erlitten eine, meist recht ausgedehnte Gangrän und 93% zeigten während des ganzen Versuches Durchblutungsstörungen.

Die Tab. 2 faßt diese Prozentzahlen übersichtlich zusammen.

Tabelle 2.

Gruppe	Gangrän mit konsekutiver dauernder Verstümmelung	Cyanose bzw. oberfl. Gangrän (schließl. zurückgebildet)	Summe	ohne Veränderung geblieben
I	60%	30%	90%	10%
II	20%	20%	40%	60%
III	86,4%	6,6%	93%	6,6%

In Abb. 1–3 wurde versucht, ein ungefähres Bild von der durchschnittlichen Schwere der Schädigung zu geben; man sieht, wie hochgradig der Gewebsverlust bei den mit den hohen Vasculatdosen behandelten Tieren ist, wie relativ gering bei denen, die mit kleinen („physiologischen") Dosen behandelt sind und wie die Kontrollgruppe in der Mitte steht.

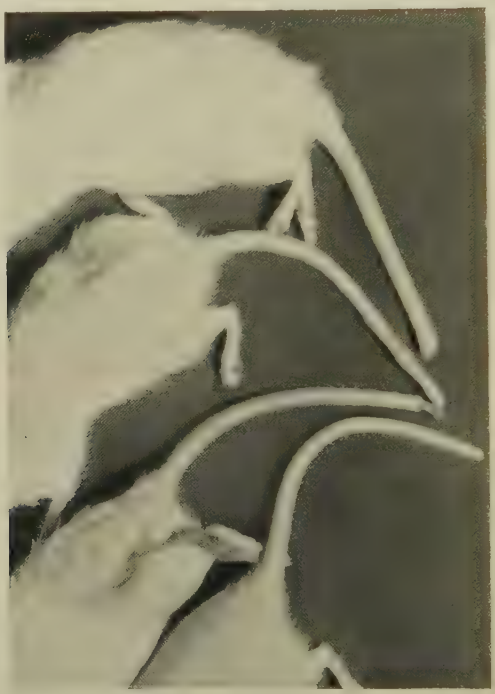


Abb. 1. Ratten, mit Ergotamin und Adrenalin allein behandelt. (Bei der 2. Ratte von oben die im Text erwähnten kolbigen Auftreibungen im Schwanz.)

Vergleicht man unsere Ergebnisse mit denen, die Ratschow in seinen Versuchen erhalten hat, kann man sagen, daß unter Berücksichtigung unseres nicht 100%igen Kontrollversuchs, die kleinen Vasculatdosen den Sexualhormonen (abgesehen vom Stilben vielleicht) in der Wirkung kaum nachstehen, dem Acetylcholin deutlich überlegen sind (das noch dazu keine Fernwirkung hat), und nur der Kombination Acetylcholin-Aneurin gegenüber schwächer wirken.

Wenn — woran man kaum zweifeln kann — die Kombination Ergotamin-Adrenalin tatsächlich einen *Dauerkrampf der Arteriolen und Präarteriolen bewirkt, so muß das Vasculat in kleinen Dosen imstande sein, diesen Krampf zu lösen* und, wie man nach Unna[8] annehmen muß, durch

direkte Erschlaffung der Gefäßmuskulatur die gestörte Durchblutung wiederherstellen.

Zu diskutieren bleibt noch die Frage: warum wirken die großen Dosen genau umgekehrt? Man hat fast den Eindruck, als ob sie die Wirkung

Abb. 2. Ratten, die neben Ergotamin + Adrenalin kleine Dosen Vasculat bekamen. Die Veränderungen sind geringfügig. Auch hier ein Tier (2. von oben) mit knotigen Auftreibungen im Schwanz, die sich später etwas verkleinerten.

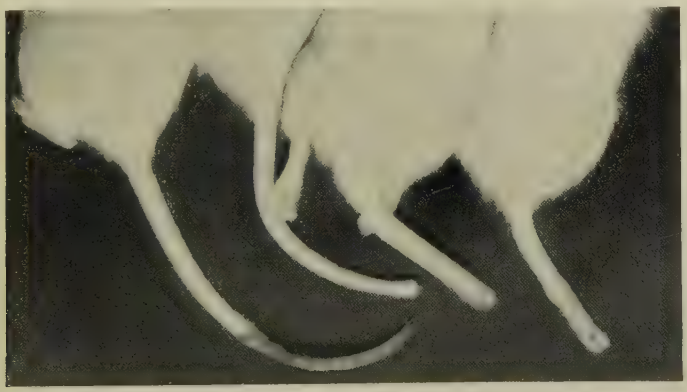


Abb. 3. Ratten, die neben Ergotamin + Adrenalin sehr große Dosen von Vasculat erhalten hatten. Hochgradige Gangrän mit konsekutivem Substanzverlust. (Bei der rechten Ratte erkennt man auch hier noch die kolbige Auftreibung mitten im erhaltenen Schwanzrest.)

der zugesetzten kleinsten Adrenalinmengen verstärkten, ja geradezu potenzierten. Wir können darüber nur Vermutungen anstellen. Entweder ist die Herzschädigung, die Unna[8] in seinen Versuchen gesehen hat, daran schuld, weil die eingeschränkte Leistungsbreite des Herzmuskels

nicht mehr genügend Kraft aufbringt, um die Erhöhung des peripheren Widerstandes, wie er sich durch den Arteriolenkrampf etabliert, durch Mehrleistung zu überwinden; oder das Butylsympatol kehrt in großen Dosen seinen Wirkungsmechanismus um und entfaltet einen adrenalinartigen Effekt, was nach Beobachtungen am Menschen, wo große Dosen adrenalinähnliche Symptome machen, nicht ganz von der Hand zu weisen wäre. Allerdings sprechen die Untersuchungen von Förster, Kuschinsky und Lüllmann[26] gegen eine solche Deutung.

Der Modellversuch mit der Ergotingangrän, den Ratschow als sehr brauchbar für die Prüfung von gefäßwirksamen Substanzen erwiesen hat, scheint nun einmal mehr experimentell zu zeigen, daß wir im *Vasculat eine vasodilatatorische Substanz* vor uns haben, die die wertvolle und seltene Eigenschaft besitzt, nicht nur große Gefäße (wie das etwa das Eupaverin tut), sondern gerade die *Arteriolen und Präarteriolen zu erweitern*. Trifft dies zu, so würden die Befunde von Hauss und Kreuziger[12], daß speziell die maligne Nephrosklerose so günstig reagiert, experimentell mitunterbaut.

Zusammenfassung.

In Sympatolabkömmlingen, deren Seitenkette an der randständigen Aminogruppe verlängert wurde, kehrt sich, mit zunehmender Länge dieser Kette, die Gefäßwirkung allmählich um. Besonders die Butylderivate wirken nur noch gefäßerweiternd und blutdrucksenkend.

Als Modellversuch wurde die durch Ergotamin + Adrenalin erzeugte Schwanzgangrän der Ratte verwendet, die durch einen Dauerspasmus der Arteriolen und Präarteriolen hervorgerufen ist. An diesem wird dargetan, daß das Butylsympatol (Vasculat) die Durchblutungstörungen weitgehend abschwächt bzw. verhindert, wenn es in einer der klinischen Verwendung analogen Dosierung gegeben wird.

Daraus kann geschlossen werden, daß das Vasculat einen seiner Angriffspunkte in der dilatatorischen Wirkung auf Arteriolen und Praearteriolen hat, was es als Gefäßmittel besonders wertvoll macht.

Nach sehr großen, die therapeutisch üblichen um das 20fache überschreitenden Mengen verstärkt es hingegen die Durchblutungstörungen, wahrscheinlich durch seine herzschädigende Wirkung (oder weil es in dieser Dosierung und Kombination adrenalinähnliche Effekte gewinnt).

Literatur.

[1] Holtz, P.: Arzneimittelforschg **1**, 350 (1951). — [2] Dale, H. H., and G. Barger: J. of Physiol. **41**, 19 (1910). — [3] Chen, Wu, and Hendriksen: J. of Pharmacol. **36**, 363 (1929). — [4] Schaumann, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **153**, 161 (1930). — [5] Trendelenburg, P.: Dtsch. med. Wschr. **1930**, 1987. — [6] Bülbring, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **152**, 257 (1930). — [7] Kuschinsky, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **156**, 290 (1930). — Kuschinsky, G., u. Oberdisse: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **162**, 46 (1931). — [8] Unna,

Kl.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 207 (1951). — [9] Duesberg, R.: Dtsch. med. Wschr. **74**, 529 (1949). — Nauh. Fortb.-Lehrg. **15**, 66 (1950). — Duesberg, R., u. H. Spitzbarth: Dtsch. med. Rundschau **3**, 299 (1949). — [10] Spitzbarth, H., u. O. Merz: Dtsch. med. Wschr. **75**, 615 (1950). — [11] Kestermann, E., u. W. Wendenburg: Wien. med. Wschr. **4**, 758 (1950). — [12] Hauss, W. H., u. H. Kreuziger: Wien. med. Wschr. **101**, 544 (1951). — [13] Kreuziger, H., u. E. Veit: Neue med. Welt **1**, 921 (1950). — [14] Mechelke, K., u. F. Heinzel: Z. exper. Med. **116**, 193 (1950). — [15] Krauss, H., u. A. Miehlke: Dtsch. med. Wschr. **75**, 1524 (1950). — [16] Becker, K., u. F. Kaiser: Med. Klin. **46**, 640 (1951). — [17] Linden, H.: Med. Welt **20**, 811 (1951). — [18] Krug, G., u. R. Peper: Ärztl. Praxis **34**, 10 (1951). — [19] Zeman, W., u. H. Lüssenhop: Med. Klin. **46**, 1366 (1951). — [20] Friese, G.: Verh. dtsch. Ges. Kreislaufforschg **17**, 219 (1951). — [21] Marx, H.: Verh. dtsch. Ges. Kreislaufforschg **17**, 271 (1951). — [22] Ratschow, M., u. H. C. Klostermann: Z. klin. Med. **135**, 198 (1939). — Ratschow, M., u. M. L. Steckner: Z. klin. Med. **136**, 140 (1939). — Ratschow, M.: Die peripheren Durchblutungsstörungen. Dresden: Steinkopff 1950. — [23] Rothlin, E.: Arch. internat. Pharmacodynamie **27**, 459 (1923). — [24] Loewe, L., and S. E. Lenke: J. of Pharmacol. **1938**; zit. nach Ratschow[22]. — [25] McGrath, E.: Arch. Int. Med. **55**, 942 (1935). — [26] Förster, W., G. Kuschinsky u. H. Lüllmann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 23 (1950).

Prof. Dr. Wilh. Beiglböck, Freiburg/Br., Medizinische Universitäts-Klinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 440—446 (1953).

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Hamburg.

Über die Zweckmäßigkeit einer dauernden Kontrolle der Heizenergie bei Messungen mit der Thermostromuhr.

Von

E. Dunker und W. Köhrmann.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. September 1952.)

Die Messung von Durchflußmengen mit hochfrequentem Wechselstrom und Differenzthermoelement nach Rein[5] hat sich als das ideale Prinzip für die experimentelle Medizin erwiesen. Da der Reinsche Meßaufnehmer auch auf kleine Blutgefäße zugeschnitten werden kann und mit seinem Energielieferanten bzw. dem Registrierinstrument nur durch dünne Drähte verbunden ist, wird an den ursprünglichen Verhältnissen im Körper des Versuchstieres praktisch nichts geändert.

Der Meßaufnehmer ist bekanntlich ein rinnenförmiger Bakelitträger für zwei Blechplatten aus Konstantan. In die eine Platte sind mit gewissem Abstand zwei Kupferdrähte eingelötet (Thermoelemente). Ein zwischen den Platten in der Rinne liegendes Blutgefäß wird mit Hochfrequenz durchwärmt. Das Ausmaß der Aufheizung des strömenden Blutes hängt ab von der Blutmenge, welche die Heizstelle jeweils passiert. Eine schnell bewegte, also große Blutmenge wird weniger aufgeheizt und ruft dementsprechend an den vor und hinter der Heizstelle gelegenen Thermolötstellen eine geringere Temperaturdifferenz hervor, als eine kleine Blutmenge bei langsamer Strömung. Somit ist die Differenz-Thermospannung ein Maß für die Durchflußmenge pro Minute. Voraussetzung für eine eindeutige Beziehung zwischen Temperaturdifferenz und Durchflußmenge ist die *gleichmäßige* Aufheizung der Blutsäule mit einer *konstanten* Wärmemenge. Legt man z. B. Heizrohre an ein Blutgefäß[3], dann ist der stattfindende Wärmeaustausch strömungsabhängig, so daß die Blutsäule ungleichmäßig aufgeheizt wird. Auf diese Weise kann wohl eine Änderung, kaum aber die Größe des Durchflusses sicher gemessen werden. Bei Hochfrequenzheizung jedoch verhalten sich die Galvanometerausschläge praktisch wie die Quadrate der Heizstromstärken. Das Meßergebnis wird weder durch Viscositäts- noch durch Temperaturänderungen der Durchströmungsflüssigkeit beeinflußt. Außerdem läßt sich mit 300 Kilohertz eine störende Polarisation an den Heizplatten vermeiden, was mit der aus Bequemlichkeitsgründen angepriesenen Gleichstromheizung aus einem Akkumulator[1] niemals gewährleistet ist.

Die Brauchbarkeit der Thermostromuhr für quantitative Messungen steht und fällt mit der Konstanz ihrer Heizung. Mit anderen Worten, der Hochfrequenzerzeuger muß unter allen vorkommenden Bedingungen konstante Energiemengen liefern. Gerade diese Forderung ist aber nicht so leicht zu erfüllen wie es scheinen mag. Die Hinderungsgründe wollen wir im Folgenden näher betrachten, aber auch zeigen, wie man Schwierigkeiten beim quantitativen Arbeiten mit der Thermostromuhr überwinden

kann. Diese Bemühung dürfte im Hinblick auf resignierende Urteile grade in der pharmakologischen Literatur[9] nicht überflüssig sein.

Zur Erzeugung von Hochfrequenz benutzt man Schaltungen mit Elektronenröhren. Es liegt auf der Hand, daß der Hochfrequenzerzeuger mit stabiler Spannung gespeist werden muß, wenn die abgegebene Leistung konstant sein soll. Ein besonderes Augenmerk erfordert jedoch die Abhängigkeit der Heizleistung von dem elektrischen Widerstand, der zwischen den Heizplatten des REINschen Meßaufnehmers herrscht. Dieser Widerstand mag durch kleine Kapazitäten kurzgeschlossen sein, kann aber praktisch als Ohm'scher Widerstand betrachtet werden. REIN bestimmt ihn durch Austausch gegen einen Präzisionswiderstand R. Dabei wird die Heizstromstärke J mit einem Hitzdrahtinstrument gemessen, so daß sich die Heizintensität $J^2 \cdot R$ berechnen läßt. Dieses Verfahren ist ausreichend genau, wenn die teuren kapazitäts- und induktionsarmen Meßwiderstände vorhanden sind, es setzt aber voraus, daß der Widerstand zwischen den Heizplatten während der ganzen Durchflußbestimmung derselbe ist wie bei seiner Substitution zu irgendeinem Zeitpunkt im Versuch oder hinterher.

Ein konstanter Ausschlag des Hitzdraht-Strommessers während der Durchflußmessung braucht kein Beweis für die Konstanz der abgegebenen Heizleistung zu sein, weil Hochfrequenzgeneratoren verschieden gebaut sein können! So bleibt bei dem einen Generator der abgegebene Strom konstant, auch wenn der Widerstand im äußeren Heizkreis und damit die Heizleistung sich ändert. Bei einem anders gebauten Generator bleibt die Heizleistung konstant, obwohl bei Änderungen des Widerstandes im äußeren Heizkreis der Strommesser wechselnde Ausschläge zeigt. Letzteres wäre das ideale Prinzip für die Stromuhr! Leider dürften die wenigsten der heute benutzten Stromuhrgeneratoren diese Eigenschaft haben. — Setzen wir nun den Fall, ein Hochfrequenzerzeuger sei mit seiner Leistungsabgabe auf den Widerstand getrimmt, der bei der Messung von Blut in einem Gefäß zwischen den Heizplatten eines 2 mm breiten Thermoelementes auftritt. Wenn man mit diesem Generator ein Thermoelement mit 4 mm breiter Rinne betreibt, dann wird wegen der anderen Widerstandsverhältnisse seine Leistungsabgabe von Änderungen des Außenwiderstandes abhängig. Demnach muß man von einem Hochfrequenzerzeuger für die Stromuhr zumindestens verlangen, daß man ihn auf die verschiedenen Widerstandsverhältnisse bei Verwendung der verschieden großen Thermoelemente anpassen kann.

Werden nun unter physiologischen oder pharmakologischen Bedingungen überhaupt Widerstandsänderungen zwischen den Heizplatten eines REINschen Meßaufnehmers beobachtet, welche die Leistungsabgabe des Stromuhrgenerators beeinflussen können? REIN betont, unter *physiologischen* Versuchsbedingungen niemals Schwankungen der Heizintensität über 0,5—1% hinaus festgestellt zu haben. Wir hielten es für grundsätzlich wichtig, diese Frage mit einer empfindlichen Hochfrequenzmeßbrücke eingehend zu prüfen.

Die von uns benutzten Thermoelemente sind ausschließlich „neue" Baumuster[6]. Wir haben sie sorgfältig für die Dicke der jeweils präparierten Blutgefäße

ausgewählt und ihren Sitz kritisch geprüft. Geeicht wurde nach jedem Versuch entweder an dem herausgeschnittenen oder an dem im Tierkörper belassenen Blutgefäß, in das Kanülen zur Durchströmung aus Standflaschen eingebunden waren. Die Heizleistung betrug stets 0,5 Watt.

Mechanische Erschütterungen des einwandfrei liegenden Thermoelementes dürfen keine Widerstandsänderungen zwischen den Heizplatten bewirken. Eine 100%ige Steigerung der Heizleistung läßt den Widerstand um 1,3% absinken, was auch Rein in seinem Ergebnisartikel[5] andeutet. Beim tief narkotisierten Hund (Morphin-Pernocton) fanden wir an Oberschenkelvene bzw. Halsarterie im Lauf von 3 Std Widerstandsschwankungen von ± 1,8 Ohm. Einfließenlassen von 50 ml physiologischer Kochsalzlösung in die Vena brachialis hatte keinen sicheren Effekt auf den an Halsarterie und Oberschenkelvene gemessenen Widerstand. Blutentnahmen von 20 ml aus der Vena brachialis ließen an der Vena femoralis den Widerstand zwischen den Heizplatten des Reinschen Meßaufnehmers um 1,2% ansteigen.

Im ganzen betrachtet sind diese unter physiologischen Verhältnissen vorkommenden Widerstandsänderungen geringfügig, dennoch würde ein auf Stromkonstanz gezüchteter Hochfrequenzgenerator bereits mit Änderung der von ihm abgegebenen Leistung reagieren. *Die Widerstandsänderungen können aber zehnfach größer sein, wenn man Medikamente einspritzt.* So löst die Injektion von 35 mg/kg Neodymacetat in die Vena brachialis nach 5 min in der Femoralvene einen Widerstandsanstieg von 5,2% aus, ohne daß der Blutdurchfluß sich ändert. Nach einer Stunde hat der Widerstand sogar um 9,8% zugenommen bei geringfügig abgesunkener Durchflußmenge. Ein Hochfrequenzgenerator muß derartigen Widerstandsänderungen von sich aus entgegensteuern können, so daß die von ihm abgegebene Leistung möglichst wenig schwankt. Man benutzt dann für quantitative Stromuhrmessungen zweckmäßigerweise einen Heizleistungsanzeiger, mit dem man die Wirksamkeit der automatischen Kompensation des Senders beobachtet, um sie durch Nachregelung von Hand unterstützen zu können, falls sie nicht ausreicht.

Eine Methode zur fortlaufenden „indirekten" Kontrolle der Heizleistung von Stromuhrgeneratoren hat Tvede-Jacobsen[8] angegeben. Sie beruht auf der festen Beziehung zwischen Anoden- bzw. Gitterstrom der schwingenden Elektronenröhre und abgegebener Hochfrequenzenergie. Praktisch gesehen muß dieses interessante Prinzip als reichlich umständlich bezeichnet werden. Mit einem direkt messenden Wattmeter würde man einfacher und sicherer arbeiten. In der Monographie von O. Zinke über Hochfrequenz-Meßtechnik[10] finden sich mehrere Methoden zur direkten Leistungsmessung, darunter auch ein kommerzielles Wattmeter mit Thermoumformern, das Siemens u. Halske bis Kriegsende geliefert haben.

Als wir für unser Institut einen vollnetzbetriebenen Stromuhrsender bauen ließen*, stützten wir uns auf günstige Erfahrungen[4] mit einem von Fack entwickelten Hochfrequenzgenerator und forderten ebenfalls eine möglichst konstante Leistungsabgabe bei wechselndem Widerstand im Heizkreis. Wir wollten auch auf eine direkte Leistungsmessung nicht

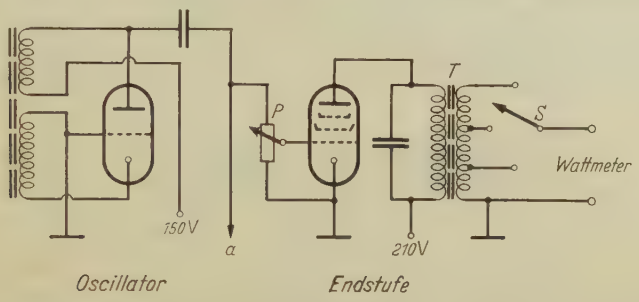


Abb. 1. Prinzipschaltung eines Hochfrequenzerzeugers mit getrennter Oscillatorstufe, Leistungsverstärkung und Anpassungstransformator.

mehr verzichten. Da bis heute noch kein Wattmeter für Hochfrequenz wieder auf dem Markt ist, entwickelten wir ein einfaches Gerät mit Germaniumgleichrichtern und einem billigen Drehspulzeigerinstrument.

Hochfrequenzgenerator. Mit einer Schaltung nach dem in Abb. 1 dargestellten Prinzip erhält man eine sehr konstante Frequenz und Amplitude. Die Trennstufe zwischen Schwingkreis und Endverstärker wurde der besseren Übersicht halber aus der Abbildung fortgelassen. Der Pfeil *a* ist als Anschluß für die Potentiometer von 3 weiteren Endverstärkerstufen zu denken, so daß gleichzeitig 4 Thermoelemente ohne gegenseitige Beeinflussung betrieben werden können. Die Hochfrequenzleistung wird jeder Endstufe über einen Anpassungstransformator *T* für 3 oder beliebig viele Widerstandsbereiche durch den Schalter *S* abgenommen. Die Zahlenwerte einiger Anpassungsbereiche gehen aus Abb. 2 hervor, mit der gezeigt werden soll, wie die Leistungsabgabe sich bei Widerstandsänderungen verhält. Die

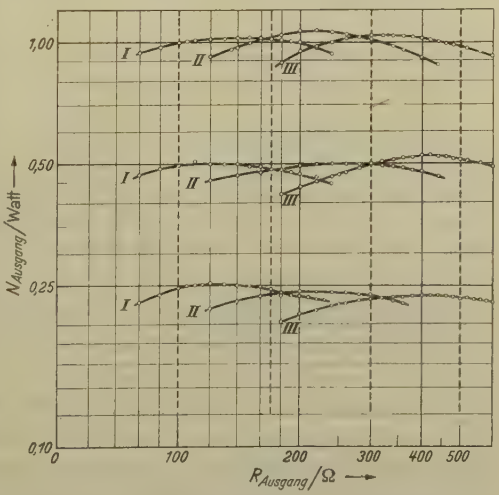


Abb. 2. Die Ausgangsleistung des von uns benutzten Stromuhrgenerators in Abhängigkeit vom Lastwiderstand. Gemessen wurde bei 3 Reglerstellungen in 3 verschiedenen Anpassungsbereichen.

* Herrn Ing. Hans Kersten danken wir vielmals dafür, daß er unseren Wünschen in jeder Weise entgegengekommen ist.

Kurven wurden bei verschiedenen Stellungen des Reglers P gewonnen. Steigt z. B. der Widerstand zwischen den Heizplatten von 250 auf 275 Ohm, also um 10%, dann ändert sich die abgegebene Heizleistung bei Stellung 2 des Anpassungsschalters um nur 2%.

Zur Stabilisierung der in üblicher Weise gesiebten Anodenspannung genügt ein Glimmspannungsteiler mit Eisenwasserstoff-Vorwiderstand, zur Stabilisierung der Röhrenheizung aller Stufen ein Eisenwasserstoffwiderstand.

Leistungsmesser. In der Schaltung Abb. 3 liegt am Punkt B eine Spannung gu, die der Spannung u proportional ist. Zwischen den Punkten A und B bzw. B und C

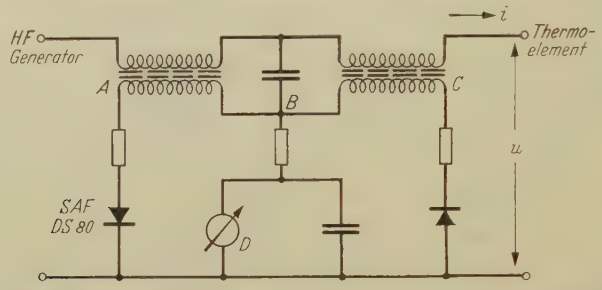


Abb. 3. Prinzipschaltbild des Hochfrequenzleistungsmessers. Erläuterung im Text.

herrscht eine Spannung ki, die proportional ist dem Strom i, der in der Hochfrequenzleitung vom Sender durch die Primärspulen des Übertragers zu den Heizplatten des Meßelementes fließt. Somit liegen an den Punkten A und C die Spannungen $gu + ki$ bzw. $gu - ki$. Bei A und C angeschlossene Gleichrichter geben dann folgende Ströme ab:

$$(gu + ki)^2 \text{ bzw. } (gu - ki)^2.$$

Diese beiden Ströme gegeneinander geschaltet lassen das Meßinstrument D einen Wert anzeigen, welcher der Leistung N proportional ist:

$$(gu + ki)^2 - (gu - ki)^2 = 4\,gk \cdot u \cdot i = 4\,g\,k \cdot N.$$

Früher hat man an Stelle von Gleichrichtern Thermoumformer benutzt, die bekanntlich gegen Überlastung sehr empfindlich sind. Wir haben die jetzt in guter Qualität erhältlichen Germanium-Dioden verwendet, deren Kennlinie im Gegensatz zu Thermoumformern nicht quadratisch ist. Durch Vorschalten von geeigneten Widerständen kann man es aber erreichen, daß der Strom durch die Germanium-Dioden dem Quadrat der Spannung annähernd proportional wird. Das Drehspulinstrument D (0,5 mA) zeigt die Differenz der Ströme an, die nach obiger Formel der Leistung proportional ist, die zwischen den Heizplatten verbraucht wird.

Unser Wattmeter ist alles in allem nicht viel teurer als ein Hitzdrahtstrommesser, es wird wie dieses zwischen Stromuhrsender und Meßelement geschaltet und kann für mehrere Senderausgänge dienen[7].

Die direkte Leistungsmessung erfüllt nun aber nicht nur die für pharmakologische Versuche wichtige Forderung nach dauernder Überwachung der Arbeitsweise des Stromuhrsenders, sondern sie bietet darüber hinaus noch die Möglichkeit, *die Thermoelemente mit* Ringer-*Lösung statt mit Blut zu eichen.* Das konnte man erwarten, weil Rein zum Beweis für die Unabhängigkeit der Stromuhr von Viscositätseinflüssen angeführt hat, daß die Eichwerte von Ringer-Lösung und Blut auf einer

Kurve liegen, wenn für RINGER-Lösung eine nach Substitutionsmessung des Wirkwiderstandes errechnete (höhere) Heizstromstärke benutzt wird.

Mit Hilfe eines Hochfrequenz-Leistungsmessers ist es jedoch ohne Kenntnis des Widerstandes zwischen den Heizplatten, also unmittelbar und jederzeit möglich, den Stromuhrsender so einzustellen, daß er stets dieselbe Leistung abgibt. Wie Abb. 4b für ein sogenanntes „blutiges" Thermoelement* zeigt, decken sich die mit RINGER-Lösung und defibriniertem Blut gewonnenen Eichkurven einwandfrei. Bei den üblichen „un-

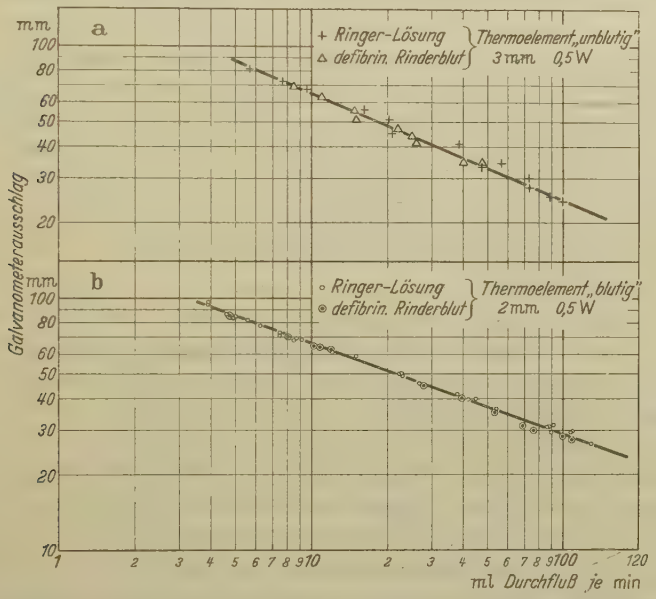


Abb. 4. Eichkurve *a* wurde mit einem üblichen, *b* mit einem direkt durchströmten Meßelement an einer herausgeschnittenen Oberschenkelvene vom Hund aufgenommen. Die Meßpunkte beider Eichkurven wurden wahllos durcheinander im Zeitraum von 2½ Std ermittelt. Zwischendurch waren Hochfrequenzheizung und Durchfluß mehrmals abgeschaltet.

blutigen" Thermoelementen ist die Übereinstimmung der mit Blut und RINGER-Lösung (oder Periston) gewonnenen Eichkurven nicht ganz so befriedigend (Abb. 4a). Will man sich wegen dieses geringfügigen Unsicherheitsfaktors auf die mit RINGER-Lösung erhaltene absolute Eichkurve eines „unblutigen" Thermoelementes nicht verlassen, dann kann man es am Ende eines Versuches *im* Tierkörper oder *außerhalb* mit Hilfe eines dahinter geschalteten, absolut geeichten „blutigen" Thermoelementes einfacher eichen als mit Rotamesser oder Hitzdrahtanemometer bzw. Meßzylinder und Stoppuhr.

* Thermoelemente für unmittelbare Durchströmung ohne Blutgefäß werden bei Versuchen mit Organpräparaten benutzt[2, 4].

Zusammenfassung.

Bei der Thermostromuhr gibt es bekanntlich 3 Variable: Hochfrequenz-Heizenergie, Durchflußmenge sowie Differenz der Bluttemperatur vor und hinter der Heizstelle. Um die gewünschte eindeutige Beziehung zwischen Durchfluß und Temperaturdifferenz zu erhalten, muß die aufgewendete Heizenergie unbedingt konstant sein.

Die Hochfrequenzerzeuger mit Elektronenröhren reagieren je nach Bauart mit der von ihnen abgegebenen Leistung sehr unterschiedlich auf Widerstandsänderungen zwischen den Heizplatten des Meßelementes. Unter streng physiologischen Bedingungen betragen diese Widerstandsänderungen nicht mehr als 1,8%, bei Einspritzung gerinnungshemmender oder narkotischer Mittel können sie aber ein Vielfaches ausmachen. Wir vermuten, daß die wenigsten der heute benutzten Stromuhrgeneratoren derartige Widerstandsänderungen automatisch ausgleichen können. Die abgegebene Heizleistung ändert sich, ohne daß der mit einem Hitzdrahtinstrument überwachte Heizstrom sich zu ändern braucht. Statt eines Heizstrommessers müßte also ein Heizleistungsmesser benutzt werden.

Ein von uns skizzierter Hochfrequenzerzeuger ist im Rahmen wählbarer Widerstandsbereiche mit seiner Leistungsabgabe maximal angepaßt. Mit unserem direkt messenden, einfachen Wattmeter kann man die wahren Verhältnisse am Ort der Messung jederzeit beurteilen und alle Maßnahmen (Injektionen, Blutentnahmen) überwachen, die den Widerstand zwischen den Heizplatten des Reinschen Meßaufnehmers verändern. Die hierdurch verursachten und vom Hochfrequenzerzeuger nicht kompensierbaren Heizleistungsänderungen lassen sich unter sicherer Kontrolle des Leistungsmessers bequem von Hand ausgleichen.

Wird bei der Stromuhreichung der Hochfrequenzerzeuger stets auf dieselbe Leistungsabgabe eingeregelt, dann kann statt mit Blut bequemer mit Ringer-Lösung geeicht werden, weil die Werte sich decken.

Literatur.

[1] Baldes, E. J., and J. F. Herrick: Amer. J. Physiol. **129**, 304 (1940). — [2] Bücherl, E., u. M. Schwab: Pflügers Arch. **254**, 327 (1952). — [3] Gesell, R., and D. W. Bronk: Amer. J. Physiol. **79**, 61 (1926). — [4] Gollwitzer-Meier, Kl., E. Dunker u. O. Schrappe: Pflügers Arch. **253**, 252 (1951). — [5] Rein, H.: Erg. Physiol. **45**, 514 (1944). — [6] Rein, H., u. U. Otto: Pflügers Arch. **243**, 303 (1940). — [7] Rein, H., W. Holzer u. U. Otto: Pflügers Arch. **243**, 468 (1940). — [8] Tvede-Jacobsen, J. K.: Acta physiol. scand. **2**, 249 (1941). — [9] Wick, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 490 (1948). — [10] Zinke, O.: Hochfrequenzmeßtechnik. Zürich 1946.

Dozent Dr. Erich Dunker, Physiologisches Institut der Universität Hamburg 20, Martinistraße 52.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 447—455 (1953).

Pharmakologisches Institut der medizinischen Universität Budapest
(Direktor: Prof. Dr. B. Issekutz sen.).

Untersuchungen über die lokalanästhetische Wirkung von quaternären Ammoniumbasen.

Von
F. Herr, K. Nádor, Gy. Pataky und J. Borsi.

(Eingegangen am 19. September 1952.)

Außer Benzylalkohol und einigen Phenolderivaten enthalten sämtliche Lokalanästhetika („La") Stickstoff. Nach allgemeiner Ansicht wird die lokalanästhetische Wirkung der tertiären Stickstoff enthaltenden Verbindungen durch Quaternisierung aufgehoben (Ehrlich-Poulsson[1], Poulsson[2], Büchi[3]) oder erheblich vermindert[4]. Nachmansohn[5] untersuchte die Frage, in welcher Weise das Stickstoffisotop enthaltende Acetylcholin in den Nervenstamm diffundiert und zog aus seinen Ergebnissen die Folgerung, daß die Membran des Nervenstammes abweichend von den Membranen der Nervenendigungen und der Synapsen für das quaternäre Ammonium-Ion beinahe völlig impermeabel ist.

Bei der Prüfung der Wirkung lokalanästhetischer Mittel fanden wir, daß das Novatropin, wenn auch nur in hoher Konzentration, über eine lokalanästhetische Wirkung verfügt. Nádor u. Gyermek fanden, daß die ganglionblockierende[6] und curareartige[7] Wirkung der quaternären Ammoniumverbindungen auch davon abhängig ist, mit welcher Gruppe der Stickstoff quaternisiert wird[8], daher machten wir in der vorliegenden Arbeit die Methyl- und Benzylquaternär-Verbindung der verschiedenen bekannten La zum Gegenstand der Untersuchung und verglichen sie mit der tertiären Verbindung. In dieser Weise untersuchten wir die Wirkungsstärke der Infiltrations-, Leitungs- und Schleimhautanästhesie. Überdies prüften wir auch die Toxicität der einzelnen Verbindungen.

Methodik.

Wir untersuchten die Leitungs- und infiltrationsanästhetische Wirkung an Ratten nach dem in unserer früheren Arbeit schon beschriebenen Verfahren[9]. Das schwarz gefärbte Schwanzende der 150—200 g schweren Ratten wurde mit Wärme bestrahlt (als Wärmequelle diente das mit Linse gesammelte Licht einer 500 W-Glühlampe) und die bis zum Zucken des Schwanzes verflossene Zeit gemessen (Normalreaktionszeit). Dann injizierten wir perineural 0,1 cm^3 der zu untersuchenden Lösung. Bei Prüfung der infiltrationsanästhetischen Wirkung bestimmten wir mittels Bestrahlung des gefärbten Gebietes, 2—3 cm vom Schwanzende entfernt die Normalreaktionszeit und injizierten hier 0,1 cm^3 von der zu untersuchenden Lösung. Nach der Injektion bestimmten wir wieder die Reaktionszeit. Als Wirkung wurde nur angesehen, wenn die Reaktionszeit nach der Injektion das

Doppelte der Normalreaktionszeit (Maximalzeit) erreichte. Zur Untersuchung je einer Dosis verwandten wir eine aus 5 Ratten bestehende Gruppe und suchten nach jener geringsten Konzentration der La, auf deren Wirkung alle 5 Tiere die Maximalzeit erreichten. Das zu untersuchende Pharmakon wurde in 0,5—0,9% NaCl gelöst. Die Schleimhautanästhesie haben wir mit Anästhesiometer an Kaninchenhornhaut gemessen und das DL_{50} der Verbindungen an Mäusen mit subcutaner Injektion bestimmt.

Ergebnisse.

Die untersuchten Pharmaka waren nicht nur typische La, sondern auch andere lokalanästhetische Wirkung besitzende Verbindungen verschiedenen Typs. Das Novocain Cocain, Pantocain, Nupercain sind Lokalanästhetika, das Diphenyl-piperidinoäthyl-acetamid (9980[10]) und Atropin sind Parasympathicus lähmende Mittel, das Pyribenzamin ist ein Antihistamin und das Veratrin ein Anaestheticum dolorosum. Auch chemisch konnten die untersuchten Verbindungen in mehrere Gruppen geteilt werden. So fanden sich unter den untersuchten Mitteln basische Ester (Novocain, Pantocain); Tropinester (Cocain, Atropin); basische Säureamide (Nupercain, 9980); ein assymetrisches Äthylendiaminderivat (Pyribenzamin) und ein basisches Steranderivat (Veratrin).

Über die Herstellung der quaternären Verbindungen, die in der üblichen Weise ausgeführt wurde, werden wir an anderer Stelle ausführlich berichten. Wir möchten aber schon hier bemerken, daß sämtliche untersuchte Verbindungen stabile, kristallisierte, gut definierte Stoffe waren, dagegen stellt das Benzyl-quaternärderivat des Novocains eine überaus schwer zu behandelnde Verbindung dar, die außerordentlich hygroskopisch ist und nur über Phosphorpentoxyd in Kristallform erhaltbar ist. Obwohl die chemische Analyse der Verbindung mit der theoretischen Berechnung gut übereinstimmt, ist bei Lösung im Wasser der Benzyl-bromid-Geruch der Verbindung zu fühlen. Es ist noch nicht entschieden, ob dies vom wenigen an den Kristallen haftenden Benzylbromid stammte, oder bei der Lösung in Wasser, als Zerfallsprodukt entstand.

Einfachheitshalber werden wir diese Verbindungen mit verkürzten Namen bezeichnen, so verstehen wir z. B. unter „Atropinmethyl" das Methyl-atropinum-jodid. Sämtliche Methylderivate wurden von uns als Jodide, die Benzyl-derivate aber als Bromide hergestellt und untersucht.

Die Toxicität der Verbindungen ist in der Tab. 1 dargestellt. Issekutz hat für Atropin nachgewiesen[11], daß durch die Quaternisierung die Wirkung auf das Zentralnervensystem und so auch die Toxicität abnimmt. Die Nagetiere, also auch die Maus sind den Tropeinen gegenüber außergewöhnlich resistent und damit ist es zu erklären, daß die Quaternärderivate des Atropins an Mäusen toxischer wirken als die tertiäre Verbindung. Laut unseren Untersuchungen sind die meisten Quaternärderivate weniger toxisch, als die zum Ausgang dienende tertiäre Verbindung. Das Veratrinmethyl ist z. B. 30mal und das Veratrinbenzyl 5mal weniger toxisch, als das Veratrin. Immerhin fanden sich unter den Verbindungen auch solche, deren Toxicität durch die Quaternisierung wesentlich gesteigert wurde. Das Novocainbenzyl ist 7,5mal,

das Novocainmethyl 5mal toxischer, als die tertiäre Verbindung. Das Cocainmethyl ist 3,5mal weniger toxisch, als das Cocain; dagegen ist die Toxicität vom Cocainbenzyl gleich der des Cocains. Im allgemeinen ist zu sagen, daß die Methylquaternäre weniger toxisch sind, als die Benzyl-

Tabelle 1. *Untersuchung der Leitungsanästhesie.*

Name r Verbindung	DL_{50} an Maus sec mg/kg	Konzentration in %										mM*	Wirkungsstärke auf Basis berechnet	
		3	2	1,5	1	0,5	0,25	0,12	0,06	0,03	0,02		Novocain 1	Tert. 1
vocain														
ertiär . . .	600		$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{7}/_{10}$	$^{1}/_{10}$						47,9	1	1
nethyl . . .	80	$^{2}/_{5}$	$^{2}/_{5}$									53,0	0,9	0,9
enzyl . . .	120				$^{5}/_{5}$	$^{4}/_{5}$						19,8	2,4	2,4
ain														
ertiär . . .	100					$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{6}/_{10}$				6,6	7,3	1
nethyl . . .	350		$^{5}/_{5}$		$^{4}/_{5}$							32,4	1,5	0,2
enzyl . . .	100					$^{5}/_{5}$	$^{4}/_{5}$					8,8	5,5	0,8
percain														
ertiär . . .	45						$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{6}/_{10}$			3,0	16,0	1
nethyl . . .	80				$^{5}/_{5}$	$^{3}/_{5}$						15,2	3,1	0,2
enzyl . . .	35					$^{5}/_{5}$	$^{4}/_{5}$					4,1	11,7	0,7
ntocain														
ertiär . . .	50					$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{7}/_{10}$				7,4	6,4	1
nethyl . . .	60				$^{5}/_{5}$	$^{3}/_{5}$						16,9	2,8	0,4
enzyl . . .	70					$^{5}/_{5}$	$^{4}/_{5}$					9,4	5,1	0,8
ribenzamin														
ertiär . . .	100		$^{10}/_{10}$		$^{10}/_{10}$	$^{4}/_{10}$						30,2	1,6	1
nethyl . . .	120				$^{5}/_{5}$	$^{3}/_{5}$						17,2	2,8	1,8
enzyl . . .	70					$^{5}/_{5}$	$^{4}/_{5}$					9,5	5,0	3,2
0														
ertiär . . .	150				$^{10}/_{10}$	$^{6}/_{10}$						25,2	1,9	1
nethyl . . .	150		$^{5}/_{5}$		$^{3}/_{5}$		$^{0}/_{5}$					31,3	1,5	0,8
enzyl . . .	110					$^{5}/_{5}$	$^{3}/_{5}$	$^{1}/_{5}$				8,6	5,6	3,0
opin														
ertiär . . .	350	$^{10}/_{10}$	$^{8}/_{10}$		$^{4}/_{10}$							63,0	0,6	1
nethyl . . .	120	$^{3}/_{5}$										50,0	0,9	1,2
enzyl . . .	90		$^{5}/_{5}$		$^{5}/_{5}$	$^{2}/_{5}$						17,9	2,7	3,5
atrin														
ertiär . . .	5								$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{5}/_{10}$	0,5	95,8	1
nethyl . . .	150					$^{5}/_{5}$	$^{5}/_{5}$	$^{2}/_{5}$				2,8	16,9	0,17
enzyl . . .	25								$^{5}/_{5}$	$^{5}/_{5}$	$^{5}/_{5}$	0,2	200	2,2

* Die Maximalwirkung entfaltende minimale Konzentration in milliMol ausgedrückt auf Basis berechnet.

derivate. Zwischen der lokalanästhetischen Wirkungsstärke und der Toxicität der Verbindungen besteht aber kein Parallelismus.

Die bei der Leitungsanästhesie gewonnen Resultate sind in der Tab. 1 dargestellt. In dieser Tabelle stehen die Tertiärverbindung und die entsprechenden Methyl- und Benzylquaternäre untereinander und vom Zähler der Brüche ist abzulesen, wie viele von den im Nenner dargestellten Ratten den Maximalwert erreichten. In der vorletzten Tabellenrubrik ist die Wirkungsstärke im Verhältnis zum Novocain aufgezeichnet, und zwar so, daß das Novocain für 1 genommen wurde und mit dieser Zahl wurde die auf die Basen bezogene molare Konzentration in Verhältnis gebracht. In der letzten Rubrik ist wiederum das Verhältnis der Wirkungsstärke der Tertiärverbindung zum Methyl- und Benzylquaternär dargestellt. Wie ersichtlich, ist das Methylquaternär der Verbindungen im allgemeinen ein wesentlich schwächeres Anästheticum als das Tertiär. So ist z. B. das Nupercainmethyl 5mal schwächer als das Nupercain. Diese Regel kann aber nicht verallgemeinert werden, da das Pyribenzaminmethyl ein 1,8mal stärkeres Anästheticum ist, als das Pyribenzamin.

Das Benzylquaternär der Verbindungen war in allen untersuchten Fällen stärker wirkend als das Methylquaternär und in fünf von acht Verbindungen (Novocain, Pyribenzamin, 9980, Atropin, Veratrin) wirkte es sogar stärker als die Tertiärverbindung. Im Fall von Atropin z. B. ist das Benzylquaternär 3,5mal stärker als das Tertiär. Veratrin ist 96mal stärker, als Novocain[9], aber Veratrinbenzyl ist noch wirksamer und zwar 2,2mal stärker, als Veratrin, so daß seine an Novocain bezogene Verhältniszahl 200 beträgt. Ähnlich dem Veratrin tritt aber die Anästhesie auch bei Veratrinbenzyl erst nach anfänglichem Schmerz auf.

In der Tab. 2 sind die mit der Infiltrationsmethode gewonnenen Ergebnisse in der selben Weise dargestellt, wie die der Leitungsanästhesie in der Tab. 1. Wie ersichtlich, ist in vier Fällen von den untersuchten La die durch die Methylquaternisierung erreichte Wirkungsstärke im Verhältnis zum Tertiär vermindert, diese Verminderung ist aber mit Ausnahme des Veratrins unwesentlich. Das Methylquaternär der übrigen Verbindungen ist stärker als das Tertiär. Die Benzylquaternisierung ging andererseits, mit Ausnahme des Nupercains überall mit Steigerung der Wirkung einher. Besonders erheblich ist dies beim Pyribenzamin (12,7), Novocain (6,5), 9980 (5,9) und Atropin (5,7). Pantocainbenzyl ist 27mal stärker als Novocain, seine Stärke übersteigt sogar das bisher als stärkste bekannte tertiäre La: das Nupercain. Im allgemeinen läßt sich feststellen, daß von den Methyl- und Benzylquaternären das Benzylderivat sich stärker erwies.

Bei den tertiären Lokalanästhetika ist zur Infiltrationsanästhesie in der Regel ein La geringerer Konzentration nötig als zur Leitungsanästhesie;

diese Differenz beläuft sich aber höchstens auf das doppelte[9]. Abweichende Ergebnisse zeigen sich bei den Quaternären, indem hier die Differenz in der Konzentration bei der zweierlei Anwendungsart viel größer ist. Von Cocainmethyl bedarf es einer 16mal, von Pantocain-

Tabelle 2. *Untersuchung der Infiltrationsanästhesie.*

Name der Verbindung	Konzentration in %									mM*	Wirkungsstärke auf Basis berechnet	
	2	1	0,5	0,25	0,12	0,06	0,03	0,02	0,01		Novocain 1	Tert. 1
Novocain												
tertiär		5/5	2/5							31,9	1	1
methyl	5/5	4/5								35,1	0,9	0,9
benzyl			5/5	5/5	1/5					4,9	6,5	6,5
Cocain												
tertiär					5/5	2/5				3,3	9,7	1
methyl			5/5	5/5	5/5	4/5				2,0	15,8	1,6
benzyl				5/5	5/5	4/5				2,2	14,6	1,5
Nupercain												
tertiär					5/5	5/5	2/5			1,5	21,4	1
methyl			5/5	5/5	5/5	4/5				2,1	14,9	0,7
benzyl				5/5	5/5	4/5				2,0	15,6	0,7
Pantocain												
tertiär					5/5	3/5				3,7	8,6	1
methyl			5/5	5/5	3/5					4,2	7,5	0,9
benzyl					5/5	5/5	1/5			1,2	27,0	12,7
Pyribenzamin												
tertiär		5/5	1/5							30,2	1,1	1
methyl			5/5	5/5	3/5					4,3	7,4	7,0
benzyl					5/5	3/5				2,4	13,4	12,7
0980												
tertiär			5/5	4/5						12,6	2,6	1
methyl		5/5	5/5	0/5						7,8	4,1	1,6
benzyl				5/5	5/5	3/5				2,1	15,0	5,9
Atropin												
tertiär	5/5	3/5								50,4	0,6	1
methyl	5/5	3/5								32,8	1,0	1,5
benzyl			5/5	3/5						8,9	3,6	5,7
Veratrin												
tertiär						5/5	5/5	3/5		0,3	94,0	1
methyl			5/5	5/5	3/5					2,8	11,3	0,1
benzyl							5/5	5/5	4/5	0,2	139,0	1,5

* Die Maximalwirkung entfaltende minimale Konzentration in milliMol ausgedrückt auf Basis berechnet.

benzyl und Nupercainmethyl einer 8mal höheren Konzentration zur Leitungs- als zur Infiltrationsanästhesie. Auch bei den übrigen Verbindungen ist die Differenz eine vierfache. Die quaternären Verbindungen scheinen also in den Nervenstamm schwerer zu diffundieren, als die tertiären, daher wirken sie hier in höheren Konzentrationen als an den schmerzempfindenden Nervenendigungen.

Das Veratrin, welches sich nicht nur in seiner chemischen Konstruktion, sondern auch in seiner Wirkungsweise von den übrigen La unterscheidet[12] zeigt auch in seinen Quaternären andere Eigenschaften, als die übrigen quaternären La, indem es auch perineural angewandt, derselben Konzentration zur Erreichung der Wirkung bedarf, wie bei der Infiltrationsanästhesie.

Untersuchung der Wirkungsdauer. In der Tab. 3 ist die leitungsanästhetische Wirkung von Novocain, Cocainmethyl, 9980-benzyl und Veratrinbenzyl mit Beachtung des zeitlichen Verlaufs veranschaulicht. Das Novocain und überhaupt alle anästhetisch wirkenden Tertiärverbindungen entfalten ihre Wirkung bereits 5 min nach ihrer Verabfolgung[9]. Das Cocainmethyl und 9980-benzyl fangen — wie aus der Tabelle ersichtlich — erst 15 min nach der Injektion zu wirken an und

Tabelle 3. *Untersuchung der Wirkungsdauer.*

Name und Dosierung der Verbindung	Nr. der Ratten	Normal. Reakt.-zeit sec	Reaktionszeit nach der Injektion								
			5′	15′	30′	60′	90′	120′	240′	300′	360
Novocain 1,5%	1	4,6	8,6<	8,6<	8,6<	5,8	5,0				
	2	5,0	8,6<	8,6<	8,6<	8,6<	6,2				
	3	4,5	8,6<	8,6<	8,6<	5,4	4,2				
	4	3,8	6,4	8,6<	8,6<	7,0	7,0				
	5	3,6	8,6<	8,6<	8,6<	8,6<	5,4				
Cocainmethyl 2%	1	3,2	4,0	7,4<	7,4<	7,4<	7,4<	7,4<	7,4<	7,4<	5,0
	2	4,0	4,4	6,2	7,4<	7,4<	7,4<	7,4<	7,4<	4,8	3,8
	3	3,6	4,6	5,2	7,4<	7,4<	7,4<	7,4<	5,4	5,6	6,0
	4	3,4	4,0	4,6	7,4<	7,4<	7,4<	7,4<	7,4<	7,0	3,2
	5	3,8	3,6	3,8	6,2	7,4<	7,4<	7,4<	7,4<	4,0	4,0
9980-benzyl 0,5%	1	2,5	3,0	4,6	7,7<	7,7<	7,7<	7,7<	7,7<	7,7<	3,8
	2	4,0	4,4	7,0	7,7<	7,7<	7,7<	7,7<	7,7<	6,0	4,4
	3	2,8	3,5	4,2	7,7<	7,7<	7,7<	7,7<	7,7<	4,8	5,4
	4	5,0	5,7	7,2	7,7<	7,7<	7,7<	7,7<	7,7<	7,7<	6,0
	5	5,0	6,2	4,8	7,7<	7,7<	7,7<	7,7<	7,7<	7,7<	7,7
Veratrin-benzyl 0,02%	1	4,0	8,8<	8,8<	8,8<	8,8<	7,0				
	2	4,0	8,8<	8,8<	6,2	4,6	7,0				
	3	5,2	8,8<	8,8<	8,8<	5,8	5,4				
	4	5,0	8,8<	8,8<	7,0	6,0	4,8				
	5	4,0	8,8<	8,8<	8,8<	3,6	4,2				

erreichen ihre maximale Wirkung nach 30 min. Wenn wir aber die Wirkungsdauer untersuchen, so sehen wir, daß die Wirkung des Novocains schon nach 60 min abnimmt und nach 90 min vollständig aufhört. Dagegen zeigt das Cocainmethyl und 9980-Benzyl noch vier Stunden nach der Injektion eine maximale Wirkung. Die lokalanästhetische Wirkung der Quaternärverbindungen entwickelt sich also langsamer, ist aber sehr dauerhaft.

Die lang dauernde Wirkung erklären wir damit, daß die Quaternäre die Membran des Nervenstammes nicht nur schwer durchdringen, sondern auch langsam heraus diffundieren. Dies wird auch durch die folgende Tatsache bewiesen. Wenn wir die Quaternärverbindung nicht in der geringsten, maximale Wirkung auslösenden Konzentration, sondern in der drei bis vierfach höheren perineural injizierten, so sind wir imstande, sogar eine 12—14stündige Wirkung zu erzielen. Es ist bemerkenswert, daß die Wirkungsdauer auch bei den Tertiären länger wird, wenn wir sie konzentrierter anwenden, aber auch so ist nur eine zwei- bis dreistündige Anästhesie zu erzielen. Es muß erwähnt werden, daß das Novocainbenzyl, obwohl seine Wirkung ebenso lang dauert, wie die der übrigen Quaternärverbindungen, seine Wirkung schon 5 bis 10 min nach der Injektion entfaltet. Dies dürfte — wie schon vorhin angedeutet — dadurch verursacht sein, daß das in der Lösung vorhandene und durch seinen Geruch sich verratende Benzylbromid die Resorption beschleunigt. Diese Frage bedarf noch weiterer Prüfung.

Die Quaternärverbindungen des Veratrins verhalten sich völlig verschieden von den übrigen Quaternärverbindungen: ihre Wirkung ist schon nach 5 min maximal, hört aber nach 35—40 min auf. Die schmerzhaften Anästhetica (Anaesthetica dolorosa) lockern die Membran des Nervenstammes auf, während die übrigen La ihre Wirkung ihrer membrandichtenden Eigenschaft verdanken[12]. Das Veratrinmethyl und -benzyl gehören auch zu den schmerzhaften Anästhetica und durchdringen leicht die aufgelockerte Membran.

Bei der Infiltrationsanästhesie fanden wir am Anfang der Wirkung keinen Unterschied zwischen der Tertiär- und Quaternärverbindungen, da die Quaternäre ebenfalls sofort wirken. Ihre Wirkungsdauer ist aber die drei bis vierfache der Tertiären. Z. B. die infiltrations-anästhetische Wirkung von Cocainmethyl in 0,5% Konzentration dauerte 4—5 Std, während die gleiche Dosis der Tertiärverbindung nur 90 min anästhetisch wirkte.

Die schleimhautanästhetische Wirkung unserer Verbindungen untersuchten wir an der Kaninchenhornhaut und fanden, daß jene La, die in Tertiärverbindungen keine schleimhautanästhetische Wirkung ausübten, diese Eigenschaft auch nach der Quaternisierung nicht gewannen. Die schleimhautanästhetische Wirkung von Cocain, Pantocain und

Nupercain nimmt mit der Quaternisierung der Verbindungen beträchtlich ab. Zwischen den Methyl- und Benzylderivaten zeigt sich auf diesem Gebiet eine vier- bis achtfache Differenz namentlich sind die Benzylderivate stärker und im allgemeinen ist 0,1% jene größte Verdünnung, in der sie noch Wirkung entfalten. Die Wirkungsdauer war aber auch hier im Verhältnis zu den Tertiären länger.

Nebenwirkungen. Zwei Verbindungen, nämlich das Nupercainbenzyl und Pantocainbenzyl haben eine gewebeschädigende Wirkung. Diese Wirkung des Nupercainbenzyls besteht noch in 0,25%iger und beim Pantocainbenzyl in 0,5%iger Konzentration. Die übrigen untersuchten Verbindungen zeigten in den üblichen Konzentrationen keine gewebeschädigende Wirkung.

Besprechung der Ergebnisse.

Abweichend von der bisher allgemein geltenden Meinung fanden wir, daß die lokalanästhetische Wirkung der tertiären La mit ihrer Quaternisierung nicht aufhört, sondern in vielen Fällen sogar verstärkt wird. Im allgemeinen sind die Methylquaternäre schwächer, als ihre Benzylanaloge. Dies ist mit der bei den ganglionblockierenden Verbindungen gefundenen Gesetzmäßigkeit in Parallele zu setzen, wo wir die Benzylquaternär-Derivate immer wirksamer fanden als die tertiären, was mit der Ladungsverteilung des N-Atoms zusammenhängen dürfte[8]. Andererseits fanden wir keinen Zusammenhang zwischen der lokalanästhetischen und ganglionblockierenden Wirkung derselben Verbindung. Die Wirkung der perineural injizierten Quaternärverbindungen stellt sich langsam ein, dauert aber lange. Eine ähnliche Beobachtung ist Nachmansohn zu verdanken, der fand, daß Acethylcholin die Membran des Nervenstammes nur sehr langsam durchzudringen vermag[5]. Unsere Ergebnisse zusammenfassend können wir sagen, daß es uns gelang, mit der Prüfung der quaternären La einen Weg zu finden, auf dem es möglich sein dürfte, bisher fehlende, die Gewebe nicht schädigende, lange wirkende Lokalanästhetika zu entdecken. Die sich langsam entwickelnde Wirkung kann durch die Zugabe von tertiärem La wettgemacht werden.

Zusammenfassung.

Wir untersuchten die Leitungs-, Infiltrations- und Schleimhautanästhetische Wirkung der Methyl- und Benzylquaternäre von Novocain, Cocain, Nupercain, Pantocain, Pyribenzamin, 9980 (diphenylpiperidinoäthyl-acetamid), Atropin und Veratrin.

2. Wir fanden, daß im Gegensatz zu den bisherigen Angaben auch die quaternären Verbindungen über lokalanästhetische Wirkung verfügen.

3. Im allgemeinen sind die Benzylderivate stärker als die Methylanaloge und in mehreren Fällen sogar stärker als die tertiären Ausgangsverbindungen.

4. Die quaternären La durchdringen langsam die Membran des Nervenstammes, entfernen sich aber auch langsam daraus und damit ist ihre sich langsam einstellende aber 6—12 Std dauernde Wirkung zu erklären.

Wir sprechen unserer Mitarbeiterin Magda Markó für ihre wertvolle Hilfe bei der Herstellung der Verbindungen unseren verbindlichsten Dank aus.

Literatur.

[1] Ehrlich, P., u. Poulsson: publiziert bei Ehrlich, P., u. A. Einhorn: Ber. dtsch. Chem. Ges. **27**, 1870 (1894). — [2] Poulsson, E.: Heffter-Heubners Handb. der exper. Pharmakol. II/1, 152 (1920). — [3] Büchi, J.: Arzneimittel-Forschung **2**, 1 (1952). — [4] Kai, A. J., M. Lauridsen u. J. A. Christensen: Acta Chem. Scand. **2**, 381 (1948). — [5] Nachmansohn, D.: Modern Trends in Physiol. a. Biochem. New York Academic Press **1952**. — [6] Nádor, K., u. L. Gyermek: Magyar Kémiai Folyóirat **57**, 349 (1951). — [7] Nádor, K., L. Küttel-Issekutz u. M. Kovacsics: Magyar Kémiai Folyóirat **56**, 440 (1950). — [8] Nádor, K., u. L. Gyermek: Acta Chim. Hung. Acad. Sci. **2**, 95 (1952). — [9] Herr, F., M. Nyiri u. Gy. Pataky: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **217**, 207 (1953). — [10] Schaumann, O., u. E. Lindner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **214**, 93 (1951). — [11] Issekutz, B. sen.: Z. exper. Path. u. Ther. **19**, 1 (1917). — [12] Fleckenstein, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 196 (1950).

Dr. F. Herr, Budapest (Ungarn), Üllöi u 26, Pharmakol. Institut der Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 456—471 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. Dr. W. Schulemann).

Intravenöse und lokale Beeinflussung der afferenten Herznervenimpulse durch Lokalanaesthetica.

Von
H. F. Zipf und H. Miestereck.

Mit 5 Textabbildungen.

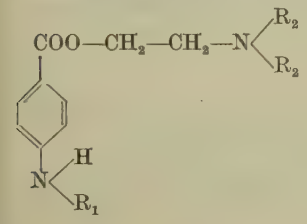
(Eingegangen am 27. September 1952.)

Aus den Untersuchungen von Eichholtz und seinen Mitarbeitern[4,5,7] hatte sich ergeben, daß eine ganze Reihe von Lokalanästhetica in der Lage ist, den durch Veratrin eingestellten Bezold-Jarisch-Reflex (BJR) aufzuheben oder sein Eintreten zu verhindern. Man konnte daraus auf eine Anästhesie der für diesen kardiogenen, depressorischen und bradykardischen Reflex verantwortlichen Receptoren in den Herzkammern schließen und durfte als besten Beweis der Ausschaltung der BJR-Rezeptoren ein entsprechendes Verhalten der Aktionsimpulse in den ihnen entstammenden afferenten Herznervenfasern erwarten. In der Tat erhöht zunächst Veratrin die Zahl und Intensität der Impulse in afferenten Herznerven zu einer regelrechten Dauerentladung (Amann, Jarisch u. Schaefer[2], Amann u. Schaefer[1], Schaefer[19]). Das Erregungsbild wird jedoch beherrscht von hohen, schnellablaufenden A-Impulsen, die aus A-Receptoren entspringen und in dicken, markhaltigen A-Fasern laufen. Diese A-Fasern bilden aber den allergeringsten Anteil der Kammernerven, sie entstammen hauptsächlich dem Vorhofsgebiet. Den BJR muß man seiner Natur nach aus dünneren B- bzw. C-Fasern erwarten, an deren Ursprüngen Chemoreceptoren (bzw. Schmerzreceptoren) sitzen. Sie liefern niedrige, dabei langsam ablaufende Impulse. Jarisch u. Zottermann[13] sahen zwar auch diese Impulse unter Veratrin vermehrt. Ihr eingehender Nachweis ist jedoch wegen der Kleinheit recht erschwert, da solche Impulse meist unter den Störpegel der Apparatur fallen. Mit Sicherheit ist auf elektrophysiologischem Wege nach Schaefer für den BJR der „Nachweis, horribile dictu, bis heute nicht erbracht" und damit die eingangs erwähnte Wirkung der Lokalanästhetica gegenüber dem veratrinbedingten BJR elektrophysiologisch eigentlich nicht direkt bewiesen. Es ist in der Tat so, daß Veratrin eine größere Reihe sensibler Receptoren zu erregen vermag, nicht nur Herzreceptoren, sondern Karotis-Sinus-Rezeptoren, die spannungsempfindlichen Rezeptoren der Muskelsehnen (Jarisch u. Zottermann[13]) und schließlich auch die Dehnungsreceptoren der Lunge und des Darmes (Meier, Bein u. Helmich[17]).

Die diskutierte Fragestellung einer Anästhesie der BJR-Receptoren durch Lokalanästhetica erweitert sich dadurch zwangsläufig zu dem umfassenden Problem einer dämpfenden oder anästhesierenden Wirkung der Lokalanästhetica auf normal und chemogen erregte innere Receptoren. Für *Novocain* gibt SCHAEFER[19] an, daß es „die Impulse in den Herznerven senkt, wenn gleich nicht sehr stark". Die dem Lungenvolumen korrespondierenden vagalen Impulse werden ebenfalls durch Novocain gehemmt (GERNANDT u. ZOTTERMANN[8], BUCHER[3], und es wirkt dieses Mittel auch den durch Varatrin in ihrer Aktivität gesteigerten Dehnungsreceptoren der Lunge und des Darmes entgegen (MEIER, BEIN, HELMICH[17]).

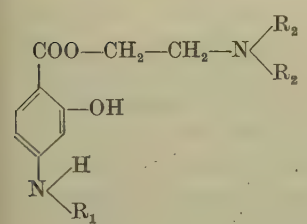
Wir haben in unseren hier mitgeteilten Untersuchungen vor allem das Problem *einer Ausschaltung der sensiblen Herzreceptoren durch eine Reihe neuerer und vergleichsweise auch älterer Lokalanästhetica* behandelt. Wir bekamen sowohl normal ablaufende Herzimpulse als auch Dauerentladungen (spontaner Natur oder durch Veratrin erregte) zur Beobachtung.

Bei den untersuchten Stoffen handelt es sich um Ester der Paraaminobenzoesäure, *Procain* und *Pantocain*, um *Procainamid* (= p-Amino-N-[2-diäthylaminoäthyl]-benzamid-chlorhydrat) und *Xylocain* (= ω-Diäthylamino-2,6-dimethylazetanilid-chlorhydrat), sowie um Ester der Paraaminosalicylsäure, *Oxy-Procain* (Oxycain)*, *Rhenocain** und *Bronchocain* (s. beigefügte Formbilder). Über die durch GRIMME und SCHMITZ[8a] synthetisierten PAS-Ester veröffentlichten KEIL und seine Mitarbeiter [14, 15, 16] eine Reihe von pharmakologischen und toxikologischen Ergebnissen. In einigen zusätzlichen Untersuchungen wurden auch *Parpanit*, *Atropin*, sowie als Spaltprodukte der Lokalanästhetica *Diäthylaminoäthanol* und *Dimethylaminoäthanol* geprüft.



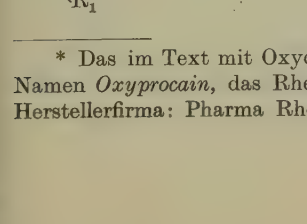
$R_1 = H$, $R_2 = C_2H_5$ — *Procain* (p-Aminobenzoesäurediäthylaminoäthylesterchlorhydrat)

$R_1 = C_4H_9$, $R_2 = CH_3$ — *Pantocain* (p-Butylaminobenzoesäure-dimethyl-aminoäthylester-chlorhydrat)



$R_1 = H$, $R_2 = C_2H_5$ — *Oxy-Procain* (Oxycain = p-Amino-salicylsäure-diäthylaminoäthylesterchlorhydrat)

$R_1 = C_4H_9$, $R_2 = CH_3$ — *Rhenocain** (p-n-Butylaminosalicylsäure-dimethylaminoäthylester-chlorhydrat)



$R_1 = C_4H_9$, $R_2 = C_2H_5$ — *Bronchocain* (p-n-Butylaminosalicylsäure-diäthylaminoäthylester-chlorhydrat)

* Das im Text mit Oxycain bezeichnete Mittel befindet sich jetzt unter dem Namen *Oxyprocain*, das Rhenocain unter der Bezeichnung *Salicain* im Handel. Herstellerfirma: Pharma Rheinpreußen, Homberg.

Versuchsanordnung.

Herznervenpräparation. Hautschnitt rechts vom Sternalende der 1. Rippe bis zum Angulus costae der 7. Rippe. Schichtweise Spaltung der Muskulatur bis auf die Rippen. Durchtrennung der 2.—5. Rippe (zwischen doppelter Ligatur) möglichst nahe am Rande der Wirbelsäure. Schnitte durch den 1. und 5. Interkostalraum bis zur V. mammaria und Umklappen des so entstandenen Lappens über das Sternum. Bei diesem Vorgehen wird, im Gegensatz zur medialen Thoraxeröffnung, das Perikard völlig geschont. Resektion des oberen und mittleren Lungenlappens. Durchtrennung der V. azygos zwischen doppelter Ligatur, Präparation der Rami cardiaci N vagi bei 10—15facher Lupenvergrößerung. Durchschneidung des auf langer Strecke freigelegten Nervenstämmchens möglichst weit kranial. Anschlingung mit Seidenfäden.

Ableitung der afferenten Aktionsimpulse. Das Versuchstier befand sich in einem allseitig geschlossenen und geerdeten Faradaykäfig aus Eisenblech, der von unten durch Wärmebestrahlung und innen durch Töpfe mit kochend heißem Wasser erwärmt wurde. Auffüllen der Thoraxhöhle mit körperwarmem Paraffinum liquidum (DAB6). Ableitung der Nervenaktionsimpulse mit senkrecht herangeführten Platindoppelelektroden, die von einem Universalstativ aus allseitig bewegt werden konnten. Verbindung der kranial gelegenen Elektrode mit dem Gitter der Eingangsröhre, der kardial gelegenen mit der Erde des *CW-Geradeausverstärkers.*

Ableitung des Elektrokardiogramms. Mittels Nadelelektroden von den beiden Vorderbeinen (Ableitung I). *Differentialverstärker* nach Kulp.

Apparatur und Registrierung. CW-Verstärker nach Schaefer[19] modifiziert von Raule[18] und *Differentialverstärker* nach Kulp. AEG-Zweistrahloszillograph. Aufnahme auf Kinonormalfilm 21/10 Din. Wir sind Herrn Prof. Schaefer für die Überlassung der gesamten Apparatur und sowohl ihm wie auch Dr. Raule für die Beratung bei der Versuchstechnik außerordentlich zu Dank verpflichtet.

Narkose. 70—75 mg Kg Chloralose (5% in 25% Urethan) per os.

Künstliche Beatmung mittels Starling-Pumpe. Zur Ausschaltung von spontaner Zwergfellatmung wurden beide Phrenicusnerven durchtrennt. Die Atemvolumenkurve wurde im Nebenschluß über den Spiegel einer Frankschen Kapsel auf den Leuchtschirm projiziert und zusammen mit den AS und dem EKG registriert (s. Schaefer).

Intravenöse Injektionen in die Ven. jugularis. *Dauerinfusion:* Infusionsapparat nach Heuwing-Braun außerhalb des Käfigs. Die mit Paraffinöl gefüllte Spritze war über eine mit Paraffin gefüllte Glasleitung mit einem im Käfiginnenraum befindlichen Reagenzglas verbunden, aus dem das gewünschte Mittel verdrängt wurde. Insgesamt konnten die Versuche von 16 Katzen ausgewertet werden.

Ergebnisse.

A. Beeinflussung der Dehnungsreceptoren des nicht vorbehandelten Herzens.

Einmalige intravenöse Gaben (insgesamt 20 Injektionen) bewirkten 5mal Herabsetzung der Impulshöhen. Immer fanden sich auch EKG-Veränderungen im Sinne einer Überleitungsverlängerung, Verbreiterung und Abrundung von QRS, sonstige QRS-Veränderungen, Vergrößerung der ST-Strecke und auch Bradykardie. Die Dosen betrugen bei Procain und Oycain 2,5 und 5 mg, bei Pantocain 0,5 mg, bei Rhenocain 1 und 2 mg, bei Bronchocain 1 und 5 mg, bei Xylocain 2 mg/kg intravenös. Die Impulsbeeinflussung dauerte etwa ebenso lange wie die

EKG-Veränderungen. Angesichts des zusätzlichen direkten Angriffs der Lokalanästhetica an den Herzmuskelzellen, den Reizbildungs- und Reizleitungsstellen, war also Vorsicht bei der Beurteilung der Impulsveränderungen geboten, denn der resultierenden Abnahme des Quotienten Dehnung/Zeit ($\Delta P/\Delta T$) folgte ja eine schwächere Erregung der Dehnungsreceptoren des Herzens. Die Abhängigkeit der Impulsdämp-

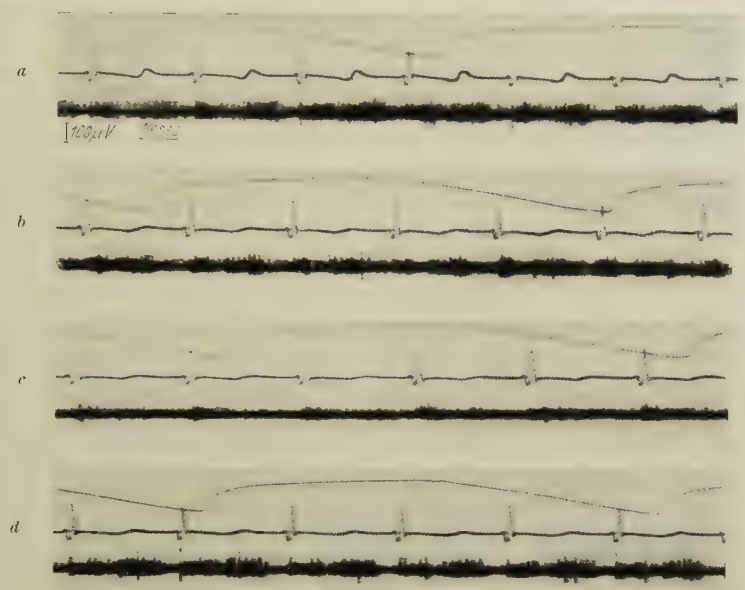


Abb. 1 *a—d*. Katze, ♂, 3,8 kg. Narkose: 75 mg/kg Chloralose (5% in 25% Urethan) oral. Künstliche Beatmung mit Starlingpumpe. Herzvagusast a aus der Gruppe 2 *a—d* re. Afferente Aktionsströme (untere Kurve), Elektrokardiogramm (mittlere), Atemvolumenkurve (obere Kurve). — *a* vorher, *b* 3 min nach Beginn einer intravenösen Dauerinfusion von 3,1 mg/kg/min. 2% *Oxycain-HCl*, *c* 9 min nach Beginn, *d* 12 min nach Beendigung der Dauerinfusion.

fung von der durch die Lokalanaesthetica bedingten Kontraktionsschwächung spricht im übrigen durchaus in der Richtung der von Jarisch[10, 12] vertretenen Theorie von der kinästhetischen Selbstkontrolle des Herzmuskels (s. auch Wagner[21] und Schaefer[20]). Trotz dieser Einschränkung dürfen wir (auch im Hinblick auf die dämpfende Wirkung der Lokalanaesthetica auf andere sensible Receptoren) an einer Anästhesie der Herzreceptoren festhalten. Wir können z. B. im folgenden einen Versuch zeigen, in dem die EKG-Änderungen so gering waren, daß eine Beeinflussung des Kontraktionsablaufes sich ausschließen ließ (s. Abb. 1).

Intravenöse Dauerinfusionen mit Procain führten in allen (5) Fällen bei einer Dosierung von 1,35—5,8 mg/kg/min zu den gleichen Ergebnissen wie einmalige Injektionen: Depressive EKG-Veränderungen, dabei eingeschränkte Impulsaussendung. Die beigefügte Abb. 1a—d bringt

einen von 3 Fällen, bei dem unter 3,1 mg/kg/min 2% Oxycain-HCl die EKG-Beeinflussung sehr gering war. Wir dürfen die Abnahme der normalen Impulsamplituden (Abb. 1a) zu dem Stande von Abb. 1b für kontraktionsunabhängig halten. Dies gilt besonders auch für den Abschnitt zwischen Abb. 1b und c. Die Rückkehr zur Norm begann (wie bei den Novocainversuchen) schon wenige Minuten nach Beendigung der Infusion (Abb. 1d), entsprechend der schnellen Spaltung von Procain und Oxycain. Es muß noch durch weitere Versuche der Eindruck einer geringeren Giftigkeit von Oxycain für das Herz bestätigt werden. Die beiden übrigen wirksamen Infusionsraten lagen bei 2,25 mg und 3,63 mg/kg/min Oxycain-HCl intravenös.

Die *intraperikardiale Injektion von Lokalanaesthetica* (*Herzbeutelanästhesie*) ergab schneller und deutlicher eintretende Ausschaltungseffekte. Es kommt hierbei ganz darauf an, welche Receptoren vom Herzbeutelinnenraum erreicht werden können, bzw. woher der gerade geprüfte Nerv seine Fasern bezieht. In der Praxis der Herzchirurgie wird z. B. das Procainbad angewandt. Es kann jedoch nicht erwartet werden, daß durch dieses alle afferenten Herznervenimpulse ausgeschaltet werden. Wir verfügen über insgesamt 9 Versuche, in denen wir 1—2 cm³ 0,5—1% Procain oder Oxycain, oder 2 cm³ 1% Rhenocain intraperikardial verabreichten. Nur in der Hälfte der Fälle verschwanden die Impulse in dem gerade untersuchten afferenten Vagusast vollständig. Ein solcher „totaler" Erfolg schließt aber nicht aus, daß in nicht geprüften Nerven Impulse aus nicht erreichbaren Receptoren, z. B. des Endokards und Myokards verlaufen. Die Dauer der Herzbeutelanästhesie (bei Belassen der anästhesierenden Lösung), gemessen am Beginn des Wiedererscheinens der Impulse, ließ sich in 7 Versuchen bestimmen. Sie betrug bei 1 cm³ 0,5% Procain oder Oxycain 7 bzw. 6 min, bei 2 cm³ 0,5% Procain 10, 12 und 17 min, bei 2 cm³ 1% Procain etwa 12 min und bei 2 cm³ 1% Rhenocain 16 min. Es handelte sich selbstverständlich um adrenalinfreie Lösungen. Für den Herzchirurgen ist es von einer Bedeutung zu wissen, wie verhältnismäßig kurz das Vollstadium der Anästhesie andauert. Das Wiedererscheinen der Impulse vollzieht sich meist recht schnell, innerhalb weniger Minuten. Auch hier muß mit einer direkten Beeinflussung des Herzens gerechnet werden, was z. B. an Änderungen des EKG zu erkennen ist. Wir verweisen auf ein weiter unten noch genauer erläutertes Versuchsbeispiel (Abb. 5a—e).

B. Wirkung auf die Veratrindauerentladung des Herzens.

Viel höhere Einwirkungsgrade ergaben sich, als wir die verschiedenen Lokalanaesthetica auf Impulse einwirken ließen, die in Form von Dauerentladungen durch bestimmte Stoffe, besonders durch Varatrin ausgelöst werden können. Wird hierbei nur die *Erregbarkeit* aller vorhandenen

Receptoren *gesteigert* und werden diese gegenüber vorhandenen Stoffwechselprodukten sensibilisiert, oder kommt es zu einer *echten Erregung?* Die erste Möglichkeit scheint die richtigere zu sein, wobei noch offensteht, ob *echte Chemoreceptoren*, oder *damit identische Schmerzreceptoren*, oder zusätzlich auch die sonst nur propriozeptiv arbeitenden *Dehnungsreceptoren* eine erhöhte Erregbarkeit erhalten. Das durch Veratrindosen um 50 γ/kg intravenös einstellbare Aktionsstrombild wird beherrscht von einer meist kontinuierlichen Impulsaussendung. Gelegentlich besteht das Erregungsbild auch aus einer Kette von Impulsserien, auf die ja etwa 1—3 und mehr Herzschläge entfallen.

Es kann vorweggenommen werden, daß in allen untersuchten 23 Fällen die *Lokalanaesthetica bei einmaliger intravenöser Injektion* eine Antiveratrinwirkung zeigten und die Dauerentladung wieder in die frühere herzsynchrone Periodik überführten. Die Wirkung war dabei in den meisten Fällen eine vollständige. Lediglich bei den niederen Dosen konnte gelegentlich eine geringe Restwirkung des Veratrins zwischen der neu erschienenen Periodik bestehen bleiben. Wie bei den normalen Impulsen dauerte die Wirkung der Lokalanaesthetica auf die Veratrinimpulse zwar nur einige Minuten lang an, im ganzen aber doch etwas länger als gegenüber den ersteren. Die Dosierung betrug bei Procain und Oxycain 2,5 und 5 mg, bei Pantocain 0,5 mg, bei Rhenocain 1 mg, bei Bronchocain 1 mg, bei Parpanit 5 mg/kg intravenös.

Die Abb. 2a—h gibt ein typisches Beispiel wieder. Das normale Aktionsstrombild (Abb. 2a) wird nach 100 γ/kg *Veratrinsulfat* intravenös im Sinne einer Dauerentladung (Abb. 2b) verändert. Die Injektion von 0,5 mg/kg Rhenocain stellt die frühere Periodik fast völlig wieder her (Abb. 2c). Eine bemerkenswerte Beobachtung kann aber in diesem Kurvenstück und 1 min später gemacht werden (Abb. 2d). Die Veratrinwirkung bricht serienartig und synchron mit dem EKG gelegentlich wieder durch. Es besteht kein Zweifel, daß die kontraktionsbedingte Dehnung der in Frage kommenden Receptoren zu diesen einschießenden herzsynchronen Entladungsserien führt. Dabei kann nach dem oben Gesagten es sich entweder um echte Chemoreceptoren (bzw. Schmerzreceptoren) oder um sensibilisierte Dehnungsreceptoren handeln. Der ganze, von mechanischer Beanspruchung abhängige Vorgang spricht mit Sicherheit für eine Veratrinwirkung im Sinne einer *Erregbarkeitssteigerung der verschiedenartigen Endorgane.* Die pulsabhängigen und in allen Zwischengraden deutlich erkennbaren kurzen Veratrinserien sind auch noch in der wiederkehrenden Dauerentladung (Abb. 2e) erkennbar. Nach 5 min ist die Veratrinwirkung wieder völlig zum Durchbruch gekommen (Abb. 2f). Eine Erhöhung der Dosis auf 1 mg/kg *Rhenocain* wirkte stärker als die erste Dosis (Abb. 2g—h). Sie erniedrigte die Gesamtzahl der Impulse, auch der Dehnungsimpulse des Herzens,

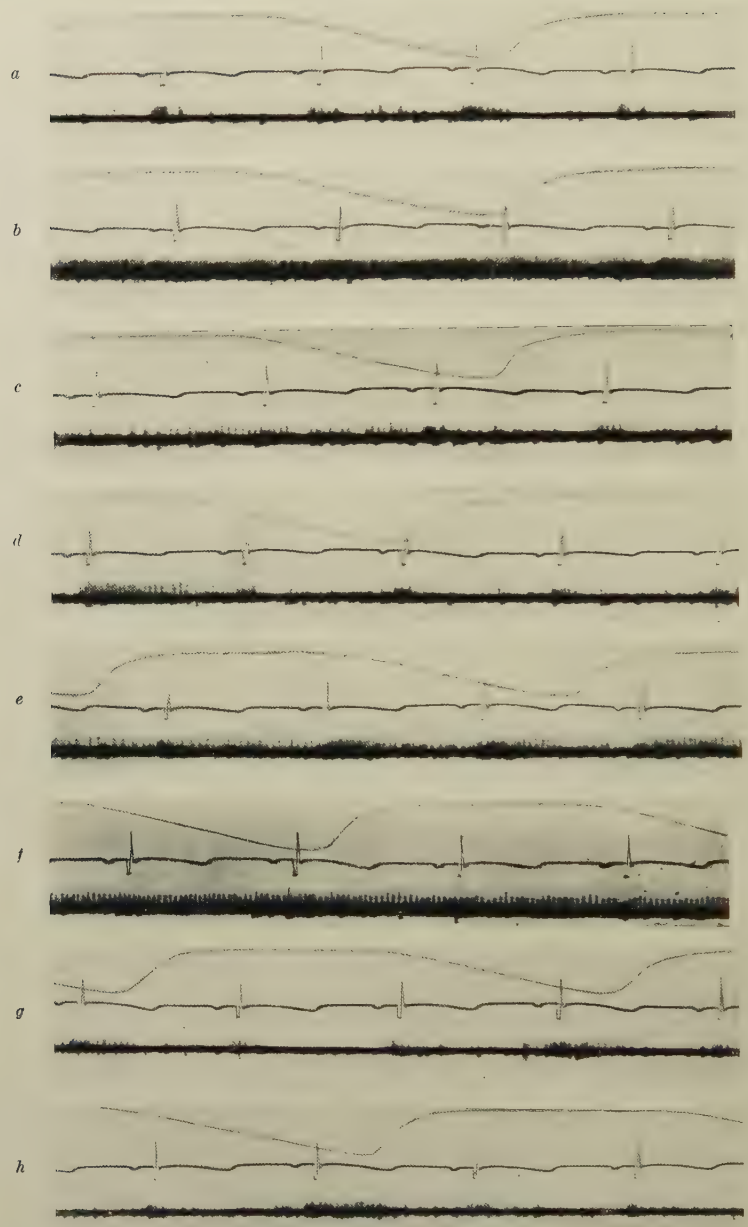


Abb. 2*a*—*h*. Katze, ♀, 2,1 kg. Narkose: 75 mg/kg Chloralose (5% in 25% Urethan) oral. Künstliche Beatmung mit Starlingpumpe. Herzvagusast aus der Fasergruppe 1 re. — *a* Normale Impulse, *b* sofort nach 100 γ/kg *Veratrin*-sulfat intravenös, *c* sofort danach 0,5 mg/kg *Rhenocain*-HCl intravenös, *d* 1 min später, *e* 3 min später, *f* 5 min später, *g* sofort danach 1 mg/kg *Rhenocain*-HCl intravenös, *h* 1 min später.

sogar unter das Ausgangsbild, eine Beobachtung, die wir immer wieder machten, und die die im vorigen Abschnitt ausgesprochene Behauptung unterstützt, daß die Lokalanaesthetica auch die Dehnungsimpulse partiell dämpfen. Am gleichen Versuchstier ließ sich auch die sehr ähnliche Wirkung von 2,5 mg/kg Procain-nitrat intravenös zeigen (Abb. 3a—d).

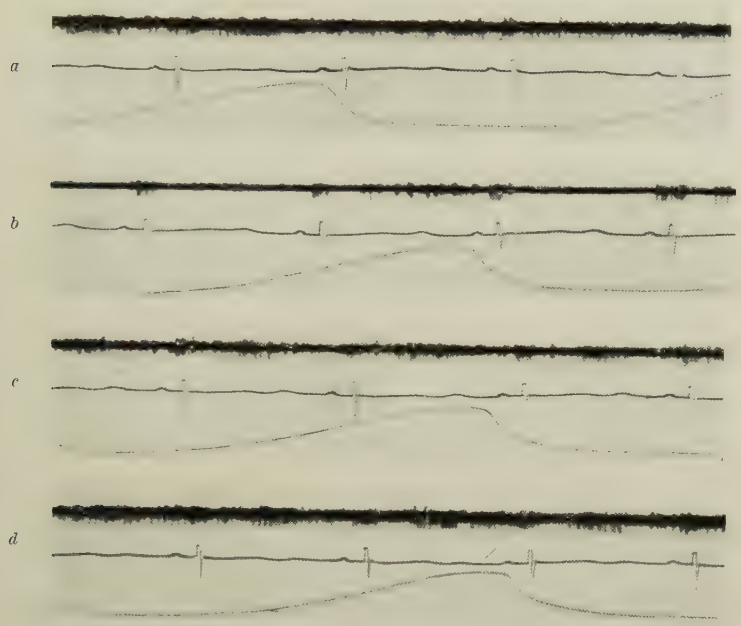


Abb. 3 *a—d*. Gleiches Versuchstier wie in Abb. 2 *a—h*. Sonstiges siehe dort. *a* 3 min nach 100 γ/kg *Veratrin*-sulfat intravenös, *b* sofort nach 2,5 mg/kg *Procain*-nitrat intravenös, *c* 1 min später, *d* 3 min später.

Wir haben in einem Falle auch Atropin (0,5 mg/kg intravenös) während der Veratrinwirkung geprüft. Es ergab sich kein Einfluß, in Übereinstimmung mit ähnlichen Beobachtungen von Jarisch[1] (zusammen mit Zottermann). Spaltstücke der Lokalanaesthetica, z. B. Diäthylaminoäthanol und Dimethylaminoäthanol, in einer Dosierung von 10 mg/kg intravenös, waren völlig wirkungslos gegenüber der veratrinbedingten kontinuierlichen Impulsaussendung.

C. Wirkung auf die kontinuierliche Impulsaussendung des geschädigten Herzens.

Geschädigte Herzen, wie sie bei Unterkühlung, brüsken Manipulationen, zu langer Versuchsdauer immer wieder vorkommen, senden vielfach kontinuierliche Impulse aus. Solche Dauerentladungen, die wir zunächst vorsichtig als „Zwischenimpulse" zwischen den herzsynchronen

Entladungen bezeichnen, stammen sicherlich von Receptoren, die durch abnorme Stoffwechselprodukte erregt werden. Das Bild ähnelt so sehr der Dauerentladung nach Veratrin, daß wir eine Gleichartigkeit bezüglich der betroffenen Receptoren annehmen, also entweder sensibilisierte Dehnungsreceptoren oder sensibilisierte bzw. erregte Chemoreceptoren (Schmerzreceptoren). Bei dieser Art von „Zwischenimpulsen“

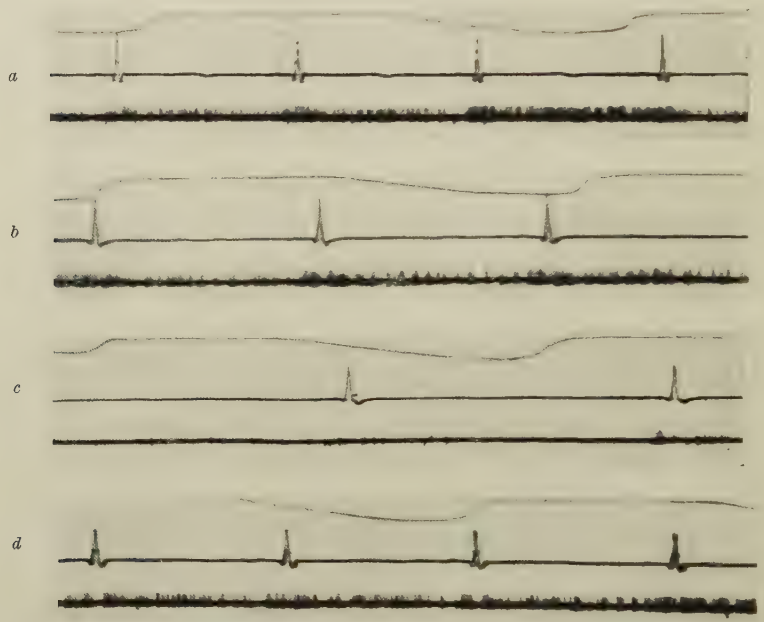


Abb. 4 *a—d*. Katze, ♀, 2,1 kg, Herzvagusast *b* aus Gruppe 2 *a—d* re. Sonstiges siehe Abb. 1. — *a* Dauerimpulse vorher, *b* 3 min nach Beginn einer intravenösen Dauerinfusion von 5,8 mg/kg/min. 2% *Procain-nitrat*, *c* 10 min nach Beginn, *d* 15 min nach Beendigung der Dauerinfusion.

ließ sich wieder gegenüber den Dehnungsreceptoren die leichtere Beeinflußbarkeit zeigen.

Die *Wirkung der intravenösen Dauerinfusion* von 5,8 mg/kg/min 2% Procain ist aus der Abb. 4a—d erkennbar. Vor Beginn der Infusion (Abb. 4a) liegen reichlich „Zwischenimpulse“ zwischen den EKG-synchronen Entladungen. Auch hier ähnlich wie nach Veratrin die Neigung zum Einschießen von stärkeren Entladungsserien. Ihr Beginn mit dem EKG beweist ihre Abhängigkeit von der Kontraktion. Nach 3 min erscheint die Dichte der „Zwischenimpulse“ deutlich geringer (Abb. 4b), und die herzsynchrone Entladung ist in 2 Teile zerlegt worden. Diese beiden Effekte zeigen ihr Maximum nach 10 min (Abb. 4c). Jetzt ist auch eine Erniedrigung der herzsynchronen Impulse nachweisbar. Schließlich ist 15 min nach Beendigung der Dauerinfusion (Abb. 4d) die Impuls-

dämpfung größtenteils abgeklungen. Zu beachten ist die gleichzeitige EKG-Veränderung (Verbreiterung und Erniedrigung von QRS) sowie aufgetretene Bradykardie. Beide Änderungen sind sicherlich an der Aufspaltung und Dämpfung der EKG-synchronen Entladungen beteiligt. Das fast völlige Verschwinden der „Zwischenimpulse" muß einer echten

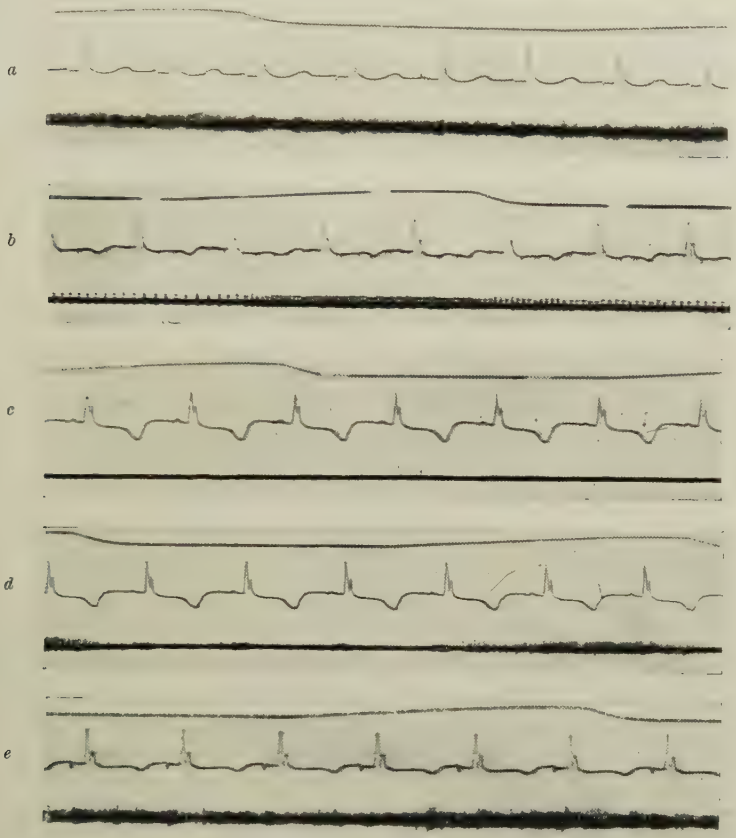


Abb. 5 *a*–*e*. Katze, ♂, 3,3 kg. Herzvagusast *b* aus Gruppe 2 *a*–*d* re. Sonstiges wie Abb. 1. – *a* Dauerimpulse vorher, *b* 3 min nach Einfüllung von 2 cm³ 1% *Rhenocain*-HCl in den Herzbeutel, *c* 4 min, *d* 19 min, *e* 26 min nach Beginn der Herzbeutelanästhesie.

endoanästhetischen Procainwirkung zugeschrieben werden. Der Versuch bekräftigt erneut die bisherige Beobachtung, daß die Dehnungsreceptoren schwerer auszuschalten sind als diejenigen sensiblen Receptoren, die auf chemische oder Stoffwechselreize mit einer Dauerentladung antworten.

Die *intraperikardiale Anästhesie* (Herzbeutelanästhesie) zeigt dies nochmals besonders deutlich. In dem Beispiel der Abb. 5a—e wurden 2 cm³ 1% Rhenocain in den Herzbeutel eingespritzt. Vor dieser Maß-

nahme (Abb. 5a) bestand ein Mischbild aus herzsynchronen, atmungssynchronen Impulsen und „Zwischenimpulsen", letztere vielleicht verständlich aus der am EKG erkennbaren Schädigung. Ein 3 min lange dauerndes Rhenocainbad beseitigt fast alle „Zwischenimpulse" (Abb. 5b). Einige in regelmäßigen Abständen erfolgende seltene Impulse sind an beiden Bildenden noch zu bemerken. Die EKG-synchronen Entladungen geben sich noch als schwache Reste zu erkennen. Die allein verbliebenen „Atemspindeln" erscheinen ebenfalls aufgelockert und erniedrigt. Nach 4 min ist eine völlige Lokalanästhesie eingetreten (Abb. 5c). Daß neben allen anderen Impulsen auch die atemsynchronen Entladungen völlig verschwunden sind, erscheint auf den ersten Blick erstaunlich. Nun arbeitet ein Teil der Dehnungsreceptoren der Vorhöfe bzw. der herznahen Venen unter dem Zuge der künstlichen Beatmung gelegentlich atemsynchron. Diese werden bei der Herzbeutelanästhesie ausgeschaltet. Dem Ausschaltungseffekt zufolge mußte es sich um einen Herznervenast handeln, dessen Receptoren im Perikard, Epikard und vielleicht noch in den äußeren Myokardschichten lagen. Wir konnten ein Wiedererscheinen der Impulse nach 16 min feststellen. Solange hielt also der volle Anästhesieeffekt an. Die Reihenfolge, in der die verschiedenen Impulse wiederkamen, war folgende: „Zwischenimpulse" und Atemimpulse ziemlich gleichzeitig, zuletzt erst die EKG-synchronen Dehnungsimpulse. In der Abb. 5d ist der Zustand nach 19 min festgehalten. Die Herzkontraktionen reichten noch nicht zur Auslösung von Dauerimpulsen aus. Das Impulsbild erschien 26 min nach Beginn der Herzbeutelanästhesie im gleichen Zustande wie vor dieser Maßnahme (Abb. 5e).

Eine unübersichtliche Mischung verschiedenartiger Impulssorten konnte durch die intravenöse Dauerinfusion, wie auch durch die Herzbeutelanästhesie regelrecht aufgegliedert werden. Es ergibt sich durch dieses „Differenzierungsverfahren" die Möglichkeit, die Tätigkeit in dickeren Herzvagusnerven zu analysieren. Im übrigen kann man ein solches Verschwinden und Wiederkehren der Impulse unter der Einwirkung von Lokalanaesthetica geradezu als Beweis für die Zuverlässigkeit der Versuchstechnik ansehen.

Besprechung.

Die Ausschaltung sensibler Receptoren durch intravenöse Injektionen hat gegenüber der gezielten Lokalanästhesie von Receptoren und Nerven lange im Hintergrund gestanden. Die hier erhobenen Befunde beweisen aber, daß auf *intravenösem Wege* es gelingt, z. B. die Sensibilität des Herzens zu dämpfen. Man kann in der Tat von einer *endoanästhetischen Wirkung* auf die sensiblen Herzreceptoren sprechen. Diese experimentelle Tatsache weckt die Erinnerung an die empirisch gewonnenen, therapeutischen Erfolge von Huneke[9] mit intravenösen Gaben von

Impletol, bei aller Kritik, die man sonst seinen Deutungsversuchen entgegen bringt. Er hat therapeutische Erfolge bei intravenösen Impletolgaben beobachtet. Schlagartig sollen bei intravenöser Injektion das schwere Vernichtungsgefühl und die Todesangst bei Angina pectoris verschwinden. Die mit Erscheinungen der Herzangst verbundenen entzündlichen, toxischen und degenerativen Veränderungen des Herzens sollen ein bevorzugter Wirkungsbereich sein, wobei schon der einmalige Durchbruch durch den verhängnisvollen Zirkel die endgültige Symptomfreiheit einleiten kann. Unsere Ergebnisse über die Herabsetzung der durch pharmakologische Sensibilisierung erhöhten Impulsaussendung können als Baustein einer experimentell fundierten Theorie der Therapie durch intravenöse Anwendung von Lokalanaesthetica angesehen werden.

Es ließ sich vor allem zeigen, daß die durch chemische Vorgänge (Stoffwechselschäden und Schmerzgifte) ausgelösten Dauerimpulse durch Lokalanaesthetica leichter beeinflußt werden als die physiologisch auftretenden, EKG-synchronen Entladungen, analog zu anderen Beobachtungen, nach denen die Schmerzempfindung bei Lokalanästhesie früher erlischt als alle anderen sensiblen Empfindungen.

Wir wollen diese Tatsache in folgender Weise deuten: Unter üblichen Bedingungen reagiert jeder Receptor auf den ihm adäquaten Reiz. Der Chemoreceptor als markloses Nervenende ist die primitivste und phylogenetisch wohl auch älteste Form eines Receptors. Aus ihm haben sich die höher differenzierten Receptoren entwickelt. Diese enthalten als grundlegendes Bauelement den Primitivreceptor in Form der marklosen Faserenden. Ihr sonstiger Aufbau dient dazu, den vorgesehenen adäquaten Reiz in einen dem Nervenende zugänglichen chemischen Reiz zu „transformieren" und störende Einflüsse aus dem umliegenden Gewebe von der Nervenendigung fernzuhalten. Ein ungewöhnlich starker Reiz kann unter Umständen die „Abschirmungsvorrichtung" durchbrechen und das Faserende zu einer unspezifischen Aktion im Sinne eines Chemoreceptors veranlassen. Normalerweise arbeiten nur die undifferenzierten, marklosen Faserenden, die den End- und Zwischenprodukten des Zellstoffwechsels frei ausgeliefert sind, als stoffwechselüberwachende Chemoreceptoren und sind damit auch Träger der Schmerzsensibilität. Unter Veratrineinwirkung werden neben den normalerweise tätigen Dehnungsreceptoren zusätzlich Chemoreceptoren (bzw. Schmerzreceptoren) in Aktion treten. Es ist weiterhin möglich, daß die histologisch gegebene spezifische „Abschirmungsvorrichtung" der Dehnungsreceptoren durch Veratrin oder andere inadäquate Reize so aufgelockert bzw. zerstört wird, daß die marklosen Primitivreceptoren ungeschützt dem Reize ausgesetzt sind und zu einer Dauerentladung im Sinne eines Chemoreceptors erregt werden. Die meist länger dauernde Einwirkung chemischer Stoffe erzeugt lange anhaltende Depolarisationen und bei

der geringen Akkomodation auch länger dauernde rhythmische Entladungen. Auf Grund ihrer ungeschützten, freien Nervenendigungen sind die Chemoreceptoren nicht nur chemischen, sondern auch anderen, unspezifischen Reizen thermischer, osmotischer oder mechanischer Natur zugänglich. Schwierigkeiten macht die Tatsache, daß die elektrophysiologisch nachgewiesene Dauerentladung nach Veratrin nicht nur in dünnen C-Schmerzfasern verlaufen kann. Dazu sind die gemessenen Potentiale zu hoch. Es bleibt nur die Annahme übrig, daß sowohl die in Aktivität befindlichen, aber auch die bisher ruhenden, d. h. nur unterschwellig getroffenen A- und B-Fasern (auch schmerzleitende A-Fasern) sensibilisiert werden und unter Veratrin kontinuierlich Impulse aussenden.

Sowohl die normal vorhandenen, ungeschützten *Schmerzfaserenden* als auch die durch Zerstörung ihrer Abschirmvorrichtung entdifferenzierten und schutzlos gewordenen, spezifischen Receptoren werden viel leichter durch *Lokalanaesthetica repolarisiert werden, als die propriozeptiv und rhythmisch auf Herzdehnung tätigen Dehnungsreceptoren ihre Impulsaussendung vermindern.*

Nach Wolf u. Hardy[22] wird von *Procain* die Schmerzleitung eher als für andere zentripetale Impulse unterdrückt. Procain blockiert dabei die C-Fasern eher als die der A- und G-Gruppe. Hier liegt eine glückliche Möglichkeit für die Therapie von Störungen der Herzsensibilität, angefangen von der einfachen, unangenehm empfundenen Extrasystolie bis zur Angina pectoris und zum sensibel gefärbten Symptomenbild des Myokardinfarktes.

Die intravenöse einmalige Injektion und Dauerinfusion ist ein Bestandteil der klinischen Praxis. Die erträgliche Dosierung ist festgelegt. Unsere gegenüber Veratrin und Schmerzimpulsen wirksame Schwelle von etwa 2 mg/kg *Procain* liegt durchaus noch an der klinischen Grenze der Dosierung. Einen Nachteil bildet die kurze, nur etwa 1—2 min anhaltende Wirkungsdauer. Wenn die Beobachtungen von Huneke zutreffen, scheint die einmalige Durchbrechung eines circulus vitiosus trotzdem „Dauerwirkungen" zu ermöglichen. Ein lohnendes Ziel wäre die Synthese eines länger wirkenden Mittels geringer Toxizität. Hierbei denken wir zunächst an die Herzgiftigkeit, z. B. im Sinne des typischen Procain-EKG. Oder ist die am Herzmuskel selbst sich zeigende Wirkung nicht auch unter dem Gesichtspunkt einer gewissen Nützlichkeit zu betrachten? Das Procain-EKG ähnelt oft so sehr dem durch Abkühlung bedingten, daß wir zu dem Gedanken und Wunsche kamen, das Herz gerade durch Procain oder ähnliche Körper vorsichtig zu drosseln, fast im Sinne eines „Schongangs", der sich letzten Endes aus der allgemein membrandichtenden, erregbarkeitsdämpfenden und damit stoffwechselsparenden Wirkung ergeben muß. Es ist in der Klinik notwendig, genau

das Ausmaß und die Häufigkeit von EKG-Änderungen nach Procain zu verfolgen. Wir selbst waren immer wieder überrascht, wie schnell nicht zu weit getriebene EKG-Änderungen nach Procain verschwanden. Das läuft durchaus mit der schnellen Entgiftung des Procains zusammen. Man muß schließlich noch bedenken, daß unsere Befunde am künstlich beatmeten Tiere erhoben wurden. Dadurch war die Gefahr eines Atemstillstandes im Laufe einer intravenösen Dauerinfusion von Lokalanaesthetica von vornherein ausgeschaltet. Auch hier wird die klinische Beobachtung über die Toxikologie des Novocains, vor allem aber ihre Bekanntgabe von wesentlicher Bedeutung für die therapeutische Brauchbarkeit der Lokalanaesthetica sein.

In der Gruppe der *Paraaminosalicylsäureester* (Oxycain, Rhenocain, Bronchocain) liegen eine Reihe von Körper vor, die auch auf Grund unserer eigenen, allerdings ihrer Natur nach nicht sehr reichlichen, Versuche durchaus den Vergleich mit den entsprechenden Ester der Paraaminobenzoesäure, z. B. Procain und Pantocain aushalten. Der Wirkungstyp ist im übrigen völlig identisch. Nach Untersuchungen von Keil u. Mitarb.[14, 15, 16] treten besonders Oxy-Procain, Rhenocain und Bronchocain in den Vordergrund. Alle 3 Körper haben einen endoanästhetischen Einfluß auf die Herznerventätigkeit. Oxy-Procain besitzt eine leicht höhere Toxizität als Procain. Doch wird diese ausgeglichen durch eine $2\frac{1}{2}$—3mal größere Wirksamkeit bei der Leitungsanästhesie. Wenn auch andere Versuche eine etwa gleiche Schwelle bei einmaligen intravenösen Dosen für beide Stoffe ergaben, so hatten wir immer wieder den Eindruck, daß Oxy-Procain (Oxycain) nicht nur gleich schnell, sondern auch etwas stärker und länger die Veratrindauerentladung zum Verschwinden brachte. Rhenocain, das nur etwa $^1/_3$—$^1/_2$ der Toxizität von Pantocain besitzt, war in unseren Versuchen mindestens ebenso wirksam wie Pantocain, in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Keil bei der Oberflächenanästhesie. Die intravenöse Wirkung ist leider nur von sehr kurzer Dauer, sofern man nicht die Dauerinfusion wählt. In Fällen akuter Lebensgefahr bei kardiogenem, reflektorischen Kollaps, hochgradigen Anfällen von Angina pectoris, aber auch beim lebensbedrohlichen Myokardinfarkt dürfte auf Grund des Experiments ein therapeutischer Nutzen zu erwarten sein. Dies gilt natürlich auch für andere Körper mit lokalanästhetischer Wirkung oder besser Wirkungskomponente, z. B. für Parpanit, das nach Eichholtz u. Mitarb.[4, 5, 7] ein brauchbares Mittel zur Beseitigung des Bezold-Jarisch-Reflexes darstellt.

Ganz anders ist die *intraperikardiale Anästhesie* (Herzbeutelanästhesie) zu beurteilen. Bei ihr gelten die Wirkungsverhältnisse wie bei der sonstigen Lokalanästhesie, nur bezogen auf adrenalinfreie Lösungen. Der Herzchirurg kann nach unseren Untersuchungen mit wirksamen

Anästhesiezeiten zwischen 10—18 min rechnen, je nach Menge und Konzentration der Lösung. Die hier feststellbare leichtere Ansprechbarkeit der Chemoreceptoren und Schmerzimpulse ist von Vorteil, da durch die Manipulation des Chirurgen am Herzen, durch Abkühlung und Gewebszerstörung gerade solche Receptoren in Daueraktion treten werden.

Zusammenfassung.

Durch Untersuchungen der Aktionsimpulse in afferenten Herznerven der Katze konnte die endoanästhetische Wirkung von Paraaminobenzoesäureestern, wie *Procain* und *Pantocain*, von Paraaminosalicylsäureestern, wie *Oxy-Procain* (Oxycain), *Rhenocain* und *Broncho-cain*, weiterhin von *Procainamid* und *Xylocain* auf die Herzreceptoren festgestellt werden. Diese Lokalanaesthetica wurden sowohl in Form einmaliger intravenöser Injektion, als auch intravenöser Dauerinfusion zugeführt. Die durch ihren spezifischen Bau geschützteren Dehnungsreceptoren wurden nur partiell in ihrer Aktivität gedämpft. Die durch Herzschädigung (z. B. durch Veratrin) schon vorhandene kontinuierliche Impulsaussendung (Dauerentladungen) ließ sich durch alle genannten Lokalanaesthetica völlig beseitigen, so daß die frühere Periodik, Impulsfrequenz und -amplituden wiederkehrten. Durch intraperikardiale Verabreichung am Herzen ließ sich die Dauer der in der Herzchirurgie gebräuchlichen Herzbeutelanästhesie zeigen und die Tatsache bestätigen, daß „Schmerzimpulse" schneller ausgeschaltet werden als Dehnungsimpulse. Aus den Untersuchungen ergab sich der Eindruck, daß von den neuen Paraaminosalicylsäureestern Oxy-Procain dem Procain, und Rhenocain dem Pantocain mindestens als gleichwertig anzusehen sind.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Bereitstellung der Mittel zur Durchführung dieser Arbeit.

Literatur.

[1] Amann, A., u. H. Schäfer: Pflügers Arch. **246**, 757 (1943). — [2] Amann, A., A. Jarisch u. H. Schäfer: Naturwiss. 30. Jg., H. 20/21. — [3] Bucher, K.: Helvet. physiol. Acta **5**, 348 (1947). — [4] Eichholtz, F., A. Fleckenstein u. R. Muschawek: Klin. Wschr. **1949**, 71. — [5] Fleckenstein, A.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **1949**, 623. — [6] Fleckenstein, A.: Die periphere Schmerzauslösung und Schmerzausschaltung. Frankfurt: Dietrich Steinkopff 1950. — [7] Fleckenstein, A., R. Muschawek u. R. Bohlinger: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 132 (1950). — [8] Gernandt, B., u. Y. Zottermann: Acta physiol. scand. **9**, 112 (1945). — [8a] Grimme, W., u. H. Schmitz: Chem. Ber. **84**, 734 (1951). — [9] Huneke: Krankheit und Heilung anders gesehen, 5. Aufl. Köln: Staufenverlag 1947. — [10] Jarisch, A.: Wien. klin. Wschr. **1949**, 61. — [11] Jarisch, A.: Briefl. Mitteilung. — [12] Jarisch, A., u. Richter: Klin. Wschr. **1939**, 185. — [13] Jarisch, A., u. Y. Zottermann:

Acta physiol. scand. **16**, 31 (1948). — [14] Keil, W., u. W. Rademacher: Arzneimittelforschung. **1**, 154 u. 218 (1951). — [15] Keil, W., u. H. Bräutigam: Arzneimittelforschg. **1**, 270 (1951). — [16] Keil, W., H. Bräutigam u. W. Holler: Arzneimittelforschg. **2**, 112 (1952). — [17] Meier, R., H. J. Bein u. H. Helmich: Experimentia **5**, 484 (1949). — [18] Raule, W.: Zit. nach Marguth, H., W. Raule u. H. Schaefer: Pflügers Arch. **254**, 224 (1951). — [19] Schaefer, H.: Ergebn. Physiol. **46**, 71 (1950). — [20] Schaefer, H.: Nauheimer Fortbild. Lehrgänge **16**, 78 (1951). — [21] Wagner, R.: Klin. Wschr. **1950**, 527. — [22] Wolf, St., u. J. D. Hardy: J. Clin. Invest. **20**, 521 (1941); zit. nach Fleckenstein[6].

Professor Dr. H. F. Zipf und Dr. H. Miestereck, Bonn, Pharmakol. Institut der Universität, Reuterstr. 2b.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 472—481 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. Dr. W. Schulemann).

Über die intravenöse Wirkung verschiedener Lokalanaesthetica auf die Lungensensibilität.

Von
H. F. Zipf und H. Miestereck.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 27. September 1952.)

In einer früheren Mitteilung[16] konnten wir zeigen, daß neuartige Lokalanaesthetica aus der Reihe der Paraaminosalicylsäureester (Oxycain*, Rhenocain*, Bronchocain, ebenso wie Procain, Pantocain, Procainamid und Xylocain) in der Lage sind, sowohl die normal ablaufenden Herznervenimpulse, als auch die durch Veratrin oder Myokardschädigung kontinuierlich auftretenden afferenten Impulsentladungen zu dämpfen. (Die chemischen Bezeichnungen sind in der vorigen Mitteilung angegeben.) Chemoreceptoren- und Schmerzreceptoren sprachen deutlich besser an als die normalen, propriozeptiv arbeitenden Dehnungsreceptoren des Vorhofgebietes.

Wir hatten im Laufe der Zeit Ergebnisse an afferenten Lungenvagusimpulsen ansammeln können, mit den gleichen Stoffen und Anwendungsarten. Es ergeben sich daraus im Zusammenhang mit Untersuchungen, die bereits von anderen Autoren an afferenten Lungenimpulsen gesammelt wurden, ganz ähnliche Gesichtspunkte wie bei unseren Versuchen an den Herznerven. Sie erscheinen uns aus diesem Grunde wesentlich genug, um hier berichtet zu werden. Die Methodik war die gleiche wie früher[16]. Die untersuchten Lungenvagusäste von Katzen wurden aus dem rechten Lungenvagusfächer präpariert. Zur Prüfung kamen *Procain*, *Pantocain*, Oxy-Procain (Oxycain), Rhenocain*, Bronchocain, S 567 (= p-Aminosalicylsäuredimethylaminoaethylester), Procainamid und Xylocain.

Ergebnisse.

1. Beeinflussung der normalen Lungendehnungsimpulse.

Einmalige intravenöse Injektionen waren in der Lage, die mit der künstlichen Beatmung eingestellten afferenten Lungenvagusimpulse deutlich zu dämpfen. Dies zeigt für 2 mg/kg Rhenocain intravenös die Abb. 1a—d. Vor der Injektion antwortete der mitteldicke Nerv, der viele Einzelfasern enthält, auf jede Lungenaufblähung mit einer Salve,

* Das im Text mit Oxycain bezeichnete Mittel befindet sich jetzt unter dem Namen *Oxyprocain*, das Rhenocain unter der Bezeichnung *Salicain* im Handel. Herstellerfirma: Pharma Rheinpreußen, Homberg.

die der Kurve des Druckanstiegs in Form einer „Atemspindel" angepaßt war (Abb. 1a). Zwischen den atemsynchronen Entladungen befanden sich aber noch sehr viele, eben sichtbare, niedrige Impulse, die die Situation der Receptoren in der Atempause ausdrückten. Sofort nach der Rhenocaininjektion erniedrigten sich die Impulsspindeln auf etwa die Hälfte (Abb. 1b). Aber auch die Impulse in den Pausen wurden geringer, und zwar so sehr, daß der echte Störpegel der Apparatur zum Vor-

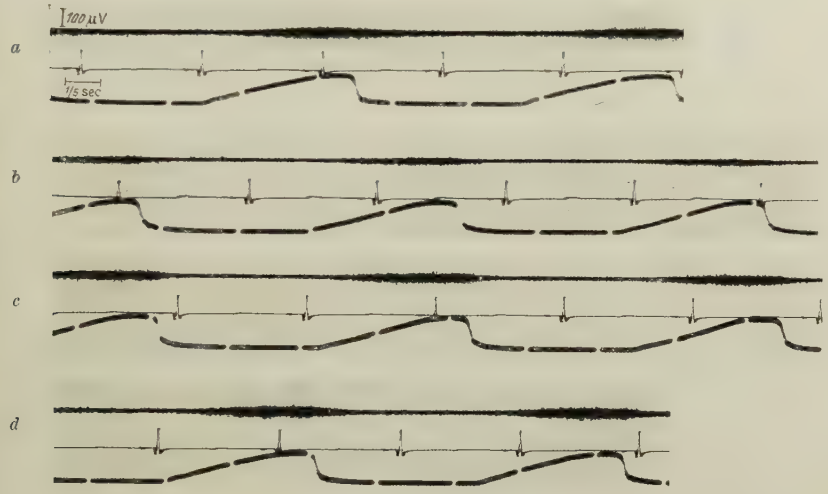


Abb. 1*a—d*. Katze, ♂, 3,4 kg. Narkose: 75 mg/kg Chloralose (5% in 25 % Urethan) oral. Künstliche Beatmung mit Starlingpumpe. Re. tiefer Lungenvagusast, zum untersten Bronchus verlaufend. Afferente Aktionsströme (obere Kurve), Elektrokardiogramm (mittlere), Atemvolumenkurve (untere Kurve). — *a* normale afferente Lungenimpulse, *b* sofort nach 2 mg/kg Rhenocain intravenös, *c* 1 min später, *d* 3 min später.

schein kam. Eine Minute nach der Injektion (Abb. 1c) war die dämpfende Wirkung noch deutlich ausgeprägt, sie war auch noch nach 3 min vorhanden (Abb. 1d). Das EKG wurde im Sinne einer Bradykardie verändert. Bei der dämpfenden Wirkung von einmaligen Lokalanaesthetica-gaben auf die Herznervenimpulse hatten wir früher auf einen möglichen Einfluß der, nach den EKG-Änderungen zu schließen, geschwächten Kontraktionskraft des Herzens hingewiesen. Im Falle der Lungenreceptoren kann die wirkliche Anästhesie der Dehnungsreceptoren als bewiesen gelten, da der durch die Atempumpe bedingte mechanische Faktor durch das Lokalanaestheticum nicht beeinflußt werden konnte. Eine etwas geringere Wirkung besaß die Dosis von 1 mg/kg Bronchocain intravenös (Abb. 2a—c).

Wir haben bei insgesamt 27 Injektionen 14mal eine schwache bis deutliche Herabsetzung der Impulshöhen beobachten können. Für Procain (7) und Oxycain (5) lagen die endoanästhetischen Schwellen bei

2,5 mg/kg, für Rhenocain (4) bei 1 mg/kg intravenös. Die doppelten Dosen waren bei diesen 3 Stoffen voll wirksam. Rhenocain wirkte deutlich länger. Pantocain (1) flachte in einer Dosierung von 0,5 mg, Broncho-

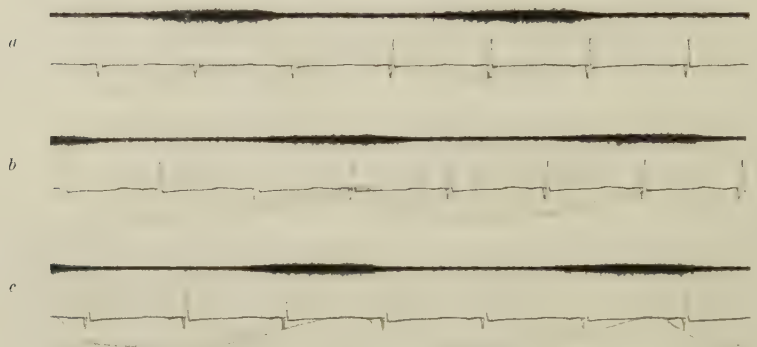


Abb. 2*a*—*c*. Katze, ♀, 2,3 kg. Lungenvagusast re. Sonstiges siehe Abb. 1. — *a* vorher, *b* sofort nach 1 mg/kg Bronchocain-HCl intravenös, c) 1 min später.

Abb. 3*a*—*e*. Gleiches Versuchstier und Lungenvagusast wie in Abb. 2. Sonstiges siehe Abb. 1. — *a* vorher, *b* 3 min nach Beginn einer intravenösen Dauerinfusion von 3,3 mg/kg min. 2% Procain-HCl, *c* 9 min nach Beginn, *d* 5 min nach Beendigung, *e* 10 min nach Beendigung der Dauerinfusion.

cain (4) bei Gaben von 1 mg/kg immer die Impulsspindeln ab. Procainamid (3) ließ bei 2 und 2,5 mg/kg jede Wirkung vermissen, Xylocain (3) ergab nach 2—3 mg nur 1 mal eine schwache dämpfende Wirkung.

In 2 Fällen prüften wir auch 10 mg und 20 mg/kg Diäthylaminoäthanol intravenös. Es war nicht die geringste Beeinflussung der afferenten Lungenimpulse erkennbar.

Die *intravenöse Dauerinfusion* wirkte, ähnlich wie wir dies für die Herzimpulse festgestellt haben, über ein gewisses Maß der Impulsdämpfung nicht hinaus. In 6 Versuchen mit Procain ab 2,06—13 mg/kg/min fanden wir 4mal eine partielle, einmal (13 mg) eine totale endoanästhetische Einwirkung. Die Wirkungsschwelle lag bei 2,5 mg/kg/min. Eine partielle Wirkung können wir an dem Versuchsbeispiel der Abb. 3a bis c erkennen. Die normalen „Atemspindeln" (Abb. 3a) wurden hier bei einer Infusionsrate von 3,3 mg/kg/min 2% Procain nach 3 min deutlich flacher, desgleichen die dazwischen liegenden Impulsstrecken (Abb. 3b). Der Effekt steigerte sich bis zur 9. min nur noch wenig (Abb. 3c), obwohl die begleitenden EKG-Änderungen schon ein sehr toxisches Stadium bekundeten. Nach der Beendigung der Infusion klang innerhalb einer Viertelstunde der endoanästhetische Effekt wieder ab (Abb. 3d—e), und das EKG erholte sich zunehmend.

Das Spaltprodukt Diäthylaminoäthanol war bei einer Infusionsrate von 6,3 mg/kg/min intravenös ohne Einfluß, obwohl die eingeflossene Dosis schon erhebliche EKG-Änderungen hervorgerufen hatte. Nach 10,2 mg/kg/min intravenös trat ein partieller Effekt ein, allerdings unter noch stärkerer, toxischer Beeinflussung des EKG.

II. Beeinflussung der Veratrinentladungen der Lungenreceptoren.

Die Entladungsbilder einer reinen Lungen- und einer reinen Herzfaser sind nach Veratrininjektionen einander so gleich, daß man, zumindest bei dickeren Nervenästchen, sie kaum zu unterscheiden vermag. Wir müssen daraus schließen, daß die Chemoreceptoren und die Dehnungsreceptoren der Lunge in ähnlicher Weise sensibilisiert werden, wie wir es für die sensiblen Receptoren des Herzens angenommen haben. Die intravenöse Verabreichung von Lokalanaesthetica stellte die ursprüngliche atemsynchrone Impulsperiodik schnell wieder her.

Die *Wirkung einmaliger intravenöser Injektionen* untersuchten wir mit 25 Dosen und zwar Procain (3) mit 2,5 mg, Oxycain (7) mit 2,5, 5 und 10 mg, Pantocain (2) mit 0,5 mg, Rhenocain (6) mit 0,5, 1, 2 und 5 mg, Bronchocain (2) mit 1 mg, S 567 mit 5 mg, Procainamid (2) mit 2,5 und 5 mg, Xylocain (2) mit 1 und 2 mg/kg intravenös. Einzig Procainamid zeigte sich in der gewählten Dosierung unwirksam, alle anderen beseitigten die Dauerentladungen des Veratrins (50—100 γ/kg intravenös), so daß die atemsynchronen Spindeln wieder sichtbar werden. Wir zeigen dies im folgenden an verschiedenen Beispielen:

Im Versuche der Abb. 4a—f wird die normale Atemperiodik (Abb. 4a) durch 100 γ/kg Veratrinsulfat in eine Dauerentladung übergeführt (Abb. 4b). Nach 5 mg/kg Procainnitrat erscheint die alte Periodik wieder (Abb. 4c), wobei auch eine leichte Abflachung der „Atemspindeln" unter die normale Ausgangshöhe erkennbar ist. Der Antiveratrineffekt

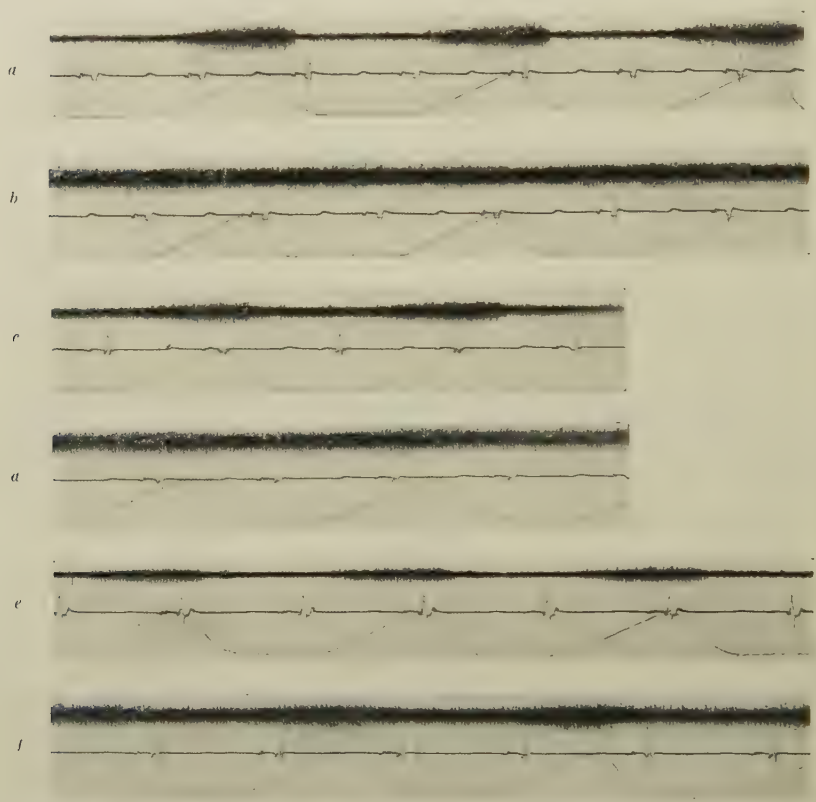


Abb. 4*a—f*. Katze, ♂, 2,5 kg. Re. tiefer Lungenvagusast, auch zur Lungenvene ziehend. Sonstiges siehe Abb. 1. — *a* vorher, *b* sofort nach 100 γ/kg Veratrinsulfat intravenös, *c* sofort danach 5 mg/kg Procainnitrat intravenös, *d* 1 min später, *e* sofort danach 5 mg/kg Oxycain-HCl intravenös, *f* 1½ min später.

hält noch keine volle Minute an (Abb. 4d). Durch die gleichhohe Dosis von 5 mg/kg Oxycain-HCl kann ein stärkerer endoanästhetischer Effekt hervorgebracht werden (Abb. 4e). Die Abflachung unter die normale Ausgangshöhe der Impulse kommt hier noch stärker zum Ausdruck. Die Wirkung ist nach 1½ min noch eben erkennbar (Abb. 4f). Oxycain zeigt also in diesem Beispiel, wie in verschiedenen anderen, eine intensivere und etwas länger anhaltende Wirkung als Procain.

Die Wirkung von Parpanit (5 mg/kg) und Pantocain (0,5 mg/kg intravenös) läßt sich aus dem Beispiel der *Abb. 5a—e* feststellen. Von beiden Stoffen besaß Pantocain die intensivere und länger anhaltende Antiveratrinwirkung. Atropin wurde in 2 Versuchen bei einer Dosierung von 0,2 und 1 mg/kg intravenös gegenüber der Veratrindauerentladung geprüft. Es war völlig wirkungslos.

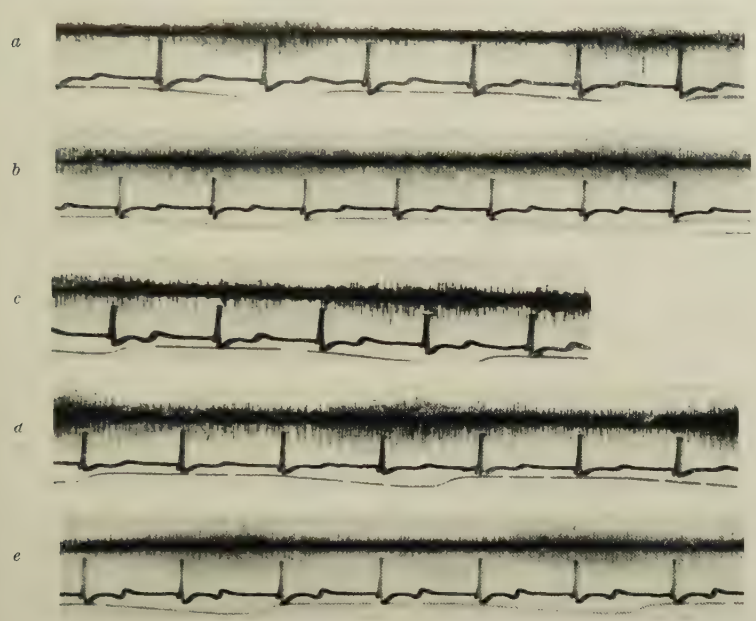


Abb. 5*a—e*. Katze, ♀, 2,4 kg. Mitteldicker Vagusast *b* re. aus Fasergruppe 2*a—d*. Sonstiges siehe Abb. 1. — *a* Normale Impulse (Lungen- und Herz-), *b* 2 min nach 100 γ/kg Veratrinsulfat intravenös, *c* sofort danach 5 mg/kg Parpanit intravenös, *d* 4 min später, *e* sofort nach 0,5 mg/kg Pantocain intravenös.

Besprechung.

Es ergibt sich zunächst die Tatsache, die wir schon in unseren Versuchen an afferenten Herzvagusimpulsen sichern konnten, daß *durch intravenöse Lokalanaesthetica die Veratrindauerentladung leicht, die atemsynchronen Aktionsimpulse der Lungendehnungsreceptoren viel schwerer zu unterdrücken sind.* In ihren Untersuchungen an Einzelvagusfasern am Halsvagus von Kaninchen machten Meier, Bein u. Helmich[7] die gleiche Beobachtung mit Nupercain, Procain, Trasentin-6 H, Pyribenzamin und Antistin. Um die normal ablaufenden Dehnungsimpulse von Einzelfasern im Halsvagus auszuschschalten, benötigte Bucher[3] toxische Dosen von 20 mg/kg Procain intravenös, die schon zur Bradykardie führten, und sah dabei selten eine völlige Anästhesie, sondern meist nur

die Impulsfrequenz herabgesetzt. Bein[2] gibt hierfür etwas geringere Procaindosen an (etwa 10—15 mg/kg intravenös). Die von uns gefundene Wirkungsschwelle für einmalige Injektionen von Procain (und Oxycain) lag bei 2,5 mg/kg, allerdings bei Katzen. Die abgeleiteten Lungenvagusästchen umfaßten naturgemäß eine größere Zahl von Einzelfasern und damit ein gemischtes Kollektiv von Aktionsimpulsen. Vielleicht ließ sich gerade auf diese Weise die niedrigere Procainschwelle zeigen. Nach Wyss u. Rivkine[15] sind immerhin mindestens 3 verschiedene Sorten afferenter Lungenvagusfasern am Zustandekommen der vagalen Atemreflexe beteiligt, rasch leitende A-Fasern in 2 Untergruppen α und β, die Afferenzen aus den Spannungsreceptoren des Lungengewebes vermitteln, und langsam leitende B_1-Fasern, die auch eine höhere Reizschwelle besitzen und offenbar vasculärer Herkunft sind. Physiologischerweise sind nur die beiden Faseruntergruppen Aα und Aβ an der vagalen Atmungssteuerung beteiligt. Nur sie stammen aus den Dehnungsreceptoren des Lungengewebes. Unter besonderen Umständen werden auch die B_1-Fasern erregt, die sonst bei der gewöhnlichen physikalischen Atmungssteuerung nicht mitmachen. Dies ist z. B. der Fall beim Kollabieren der Lungen bei eröffnetem Thorax, bzw. Pneumothorax (de Molina u. Wyss[9]). Man kann wohl sagen, daß ähnlich wie beim Herzen bei jeder Noxe, die die Lungen trifft, B_1-Fasern mit im Spiele sind. Und dies ist sicherlich bei unserer Versuchsanordnung der Fall, bei der unter Anlegung eines Thoraxfensters und Resektion des rechten Oberlappens der gewünschte Lungenvagusast präpariert wurde. Die diesen dünneren B_1-Fasern entsprechenden Receptoren stehen den Schmerzfasern also näher und reagieren anscheinend leichter auf intravenös verabreichten Lokalanaesthetica. Sie werden in ihrer Erregbarkeit durch Veratrin (bzw, Veratridin) gesteigert, noch eher als es Meier, Bein und Helmich[7]. Bein[2] für die A-Dehnungsreceptoren angaben. Damit ähneln die Verhältnisse denen am Herzen, d. h. Schmerz- und Dehnungsreceptoren geraten unter Veratrin in Dauerreaktion. Das Bild der Dauerentladung ist äußerlich nicht von der kontinuierlichen Impulsaussendung der Herzreceptoren zu unterscheiden. Wir übertragen hierher die von uns schon früher gemachten Deutungsversuche bezüglich der veratrinbedingten „Uniformierung" aller Receptoren (hier der Lunge) und deren leichtere Ansprechbarkeit gegenüber Lokalanaesthetica (s. Zipf u. Miestereck[16]).

Die künstliche Beatmung hatte in unseren Versuchen für einen gleichmäßigen Entfaltungsreiz gesorgt. Es war damit keine Abhängigkeit von irgendeiner wechselnden mechanischen Beanspruchung der Dehnungsreceptoren im Spiele, wie wir dies z. B. bei der Kontraktionsschwächung des Herzens durch die Lokalanaesthetica annehmen mußten. Die beobachteten Impulsdämpfungen in den afferenten Lungenvagusfasern können darum als echt angesehen werden. Nun wird der

Ausschaltung der Aα- und Aβ-Receptoren weniger praktische Bedeutung zukommen, als der Beseitigung von Impulsen, die in B_1-Fasern verlaufen. Ihre Wirkung auf die Zentren ist die einer starken inspiratorischen Tonusverschiebung und erheblichen Beschleunigung der Atembewegungen. Es resultiert natürlich Amplitudeneinschränkung, es kann sogar zum vollkommenen inspiratorischen Tetanus kommen (de Molina u. Wyss[9]). Zugrunde liegt hier also ein Kompensations- und Schutzmechanismus gegen Lungenkollaps im Sinne eines nociceptiven Lungenentfaltungsreflexes und zwar aus einem inspiratorischen Steuerungsmechanismus heraus. Der Gedanke liegt nahe, hierbei auch an das *Asthma bronchiale* zu denken, dessen emphysematischer Folgezustand letzten Endes das Überschießen solcher Regulationsvorgänge beweist. Nun haben wir seit einigen Jahren eine intravenöse Therapie mit Lokalanaesthetica, auch als Dauertropfinfusion, gegen Bronchialasthma (s. bei Soehring[12]). Die quälende Asthmadyspnoe und Angst verschwindet schnell, und es tritt eine Beruhigung ein. Die experimentell herbeigeführte Dämpfung und Beseitigung von normalen Impulsen und Dauerentladungen ist geradezu als Beweis für die Richtigkeit einer solchen Therapie anzusehen.

Es gibt nun noch 2 *pulmogene Reflexmechanismen mit depressorischer und kardialer Wirksamkeit.* Der eine tritt als Lungenentlastungsreflex bei Drucksteigerung in den Lungengefäßen auf, und führt zu Blutdrucksenkung und Bradykardie (Schwiegk[14], bestätigt von de Burgh Daly u. Mitarb.[4], Schweitzer[13], Hochrein u. Schneyer[5]). Bei dem anderen Reflex kommt es durch starkes Aufblasen der Lungen zu Herzverlangsamung mit geringer Blutdrucksenkung (v. Saalfeld[11]). Bei *experimenteller Lungenembolie* wurden neben Blutdruckabfall und Bradykardie in den sensiblen Lungenfasern die der Inspirationsphase entsprechenden Impulsgruppen über das doppelte verlängert und in ihrer Frequenz gesteigert (Kaindl, Polzer u. Schober[6]). Dazwischen lagen abnorme Impulse mit kleineren Amplituden.

Da durch Veratrin die afferenten Lungenimpulse gesteigert werden, fragt man auch nach depressorischen Erscheinungen am Kreislauf. Tatsächlich ruft Veratrin von der Lunge aus eine Blutdrucksenkung und Bradykardie hervor, allerdings von geringerer Stärke als vom Herzen aus (Richter u. Amann[10]). Veratrin bewirkt bekanntlich nach intravenöser Injektion auch reflektorischen und inspiratorischen Atemstillstand, der durch Vagusblockade verhindert werden kann. Damit ist der wirkungsmäßige Zusammenhang mit der bereits angeführten Erregung verschiedenartiger Lungenreceptoren, besonders aber mit den B_1-Receptoren gegeben.

Von Becker[1] wurde in 7 von 10 klinischen Fällen von Lungenembolie sofort Beseitigung der Schmerzen und der Atemnot bei intra-

venöser Procaininjektion beobachtet. Meyer-Wildesen[8] fand auch die intrapleurale Procaininjektion wirksam. Experiment und klinischer Erfolg der intravenösen und lokalen Procaintherapie entsprechen sich also. *Es gibt eine endoanästhetische Ausschaltung der pathophysiologischen Lungensensibilität, aber bis zu einem gewissen Grade auch der propriozeptiv arbeitenden Lungendehnungsreceptoren.*

Beim Vergleich der geprüften Lokalanaesthetica untereinander bestätigte sich der an Herzreceptoren gewonnene Eindruck, nämlich, daß Oxycain um einen nicht sehr hohen Betrag, aber doch deutlich intensiver und länger wirkte als Procain. Xylocain war etwa wirkungsgleich mit Procain. Rhenocain und Pantocain waren wirksamer. Procainamid war allen anderen Stoffen in seiner endoanästhetischen Wirksamkeit erheblich unterlegen. Es kam in unseren Versuchen wiederum zum Ausdruck, daß erhebliche höhere Dosen von Diäthylaminoäthanol entweder keine oder schwächere Wirkungen auf die normalen Dehnungsimpulse der Lunge zeigten, ein neuer Beweis, daß die Procainwirkung nicht auf diesem seinem Spaltprodukt beruhen kann.

Zusammenfassung.

Durch einmalige intravenöse Gaben oder durch die intravenöse Dauerinfusion von *Procain*, *Pantocain*, sowie von Paraaminosalicylsäureestern wie *Oxy-Procain*, *Rhenocain* und *Bronchocain* ließ sich bei Katzen eine partielle endoanästhetische Wirkung auf die Lungendehnungsreceptoren erzielen. Die Amplituden der afferenten Lungendehnungsimpulse wurden deutlich herabgesetzt. Hingegen waren *Procainamid* und *Xylocain* in der gleichen einmaligen Dosierung weniger wirksam als Procain, und *Diäthylaminoäthanol* bei 4—8fach höheren intravenösen Gaben ohne jeden Einfluß.

Die durch Veratrin erzeugte Dauerentladung konnte durch einmalige intravenöse Gaben aller genannten Lokalanaesthetica, mit Ausnahme von *Procainamid*, in die normale Impulsperiodik zurückgeführt werden. Die Wirkungsdauer betrug, wie gegenüber den normal arbeitenden Dehnungsimpulsen, nur einige Minuten. Auch *Parpanit* zeigte eine Antiveratrinwirkung, *Atropin* war wirkungslos.

Wie bei den Untersuchungen an den Herznerven ließ sich auch hier nachweisen, daß die von sensibilisierten Chemoreceptoren (Schmerzreceptoren) ausgesandten Impulse leichter endoanästhetisch zu beeinflussen sind, als die aus propriozeptiv arbeitenden Dehnungsreceptoren entspringenden, atemsynchronen Impulse.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Bereitstellung der Mittel zur Durchführung dieser Arbeit.

Literatur.

[1] Becker: Zit. nach Schwiegk (1951). — [2] Bein, H. J.: Helvet. Physiol. Acta **9**, C 15 u. C 16 (1951). — [3] Bucher, K.: Helvet. Physiol. Acta **5**, 348 (1947). — [4] de Burgh Daly, G. Ludany, A. Todd u. E. B. Verney: Quart. J. exper. Physiol. **27**, 123 (1937). — [5] Hochrein, M., u. K. Schneyer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **187**, 265 (1937). — [6] Kaindl, F., K. Polzer u. W. Schober: Arch. internat. Pharmacodynamie **78**, 32 (1949). — [7] Meier, R., H. J. Bein u. H. Helmich: Experientia **5**, 484 (1949). — [8] Meyer-Wildesen: Zit. nach Schwiegk (1951). — [9] Molina, A. Fernandez de, u. O. A. M. Wyss: Helvet. Physiol. Acta **8**, 464 (1950). — [10] Richter, H., u. A. Amann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **196**, 274 (1940). — [11] Saalfeld, E. v.: Pflügers Arch. **231**, 33 (1933); Verh. 14. internat. Kongr. Physiol. **1932**, 261. — [12] Soehring, Kl.: Pharmazie **1949**, 319, 355, 399. — [13] Schweitzer, A.: J. of Physiol. **87**, 46 P (1936). — [14] Schwiegk, H.: Pflügers Arch. **236**, 206 (1935); Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forschg., 17. Tg., **1951**, S. 95. — [15] Wyss, O. A. M., u. A. Rivkine: Helvet. physiol. Acta **8**, 87 (1950). — [16] Zipf, H. F., u. H. Miestereck: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck).

Professor Dr. H. F. Zipf und Dr. H. Miestereck, Bonn, Pharmakologisches Institut der Universität, Reuterstr. 2b.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 482—507 (1953).

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Wien
(Vorstand: Prof. Dr. G. Schubert).

Quantitative Untersuchungen über Faktoren, die die Reaktion männlicher Kröten auf Choriongonadotropin beeinflussen.

Von
F. X. Wohlzogen.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. Juli 1952.)

Parenterale Verabreichung von Gonadotropinen führt bei männlichen Kröten zur Freisetzung von Spermatozoen in den Testes; die freien Spermatozoen sind kurze Zeit darauf im Harn nachweisbar.

Der Mechanismus dieses Vorganges, der der Kürze halber in Anlehnung an van Oordt und Klomp (1946) als „Spermiation" bezeichnet sei, wurde vor allem von südamerikanischen Autoren untersucht, über deren Arbeiten Houssay (1947) zusammenfassend berichtet hat. Der Weg, auf dem die Spermatozoen in den Kloakenharn der Kröten gelangen, ist in jüngster Zeit eingehend von Thorborg (1950a) untersucht worden. Galli Mainini (1947) begründete auf dieser Spermiationsreaktion seinen bekannten Schwangerschaftstest, der im Wesen nichts anderes ist, als ein Nachweis des im Harn von Schwangeren in relativ großen Mengen ausgeschiedenen Choriongonadotropins (CG). Die allgemeine Verwendbarkeit der verschiedensten Krötenarten für diesen Test ist von vielen Autoren bestätigt worden; Zusammenfassungen über die umfangreiche Literatur finden sich bei Frazer (1950) und Thorborg (1950b).

In letzter Zeit mehren sich die Arbeiten, die die Spermiationsreaktion auch zu einer quantitativen Bestimmung von Gonadotropinen heranziehen; eine einheitliche Standardmethode für diesen quantitativen Test steht aber derzeit noch aus. Manche Autoren setzen die Anzahl der Spermien in der Kloakenharnprobe in Beziehung zu der verabreichten Gonadotropindosis (Houssay, 1947; Hinglais und Hinglais, 1949). Wir fanden bei unseren Untersuchungen, daß die Korrelation zwischen Dosis und Spermienzahl nicht straff genug ist, um auf dieser Basis exakte quantitative Untersuchungen anzustellen. Wir kamen daher, in Übereinstimmung mit Thorborg und Hansen (1951), zu der Ansicht, daß für quantitative CG-Bestimmungen mit der Spermiationsreaktion diese als eine Alles-oder-Nichts Reaktion zu behandeln ist (Frazer und Wohlzogen, 1951; Wohlzogen und Halama, 1951a, b).

Die bisherigen Ergebnisse der quantitativen Untersuchungen an Kröten sind sehr zufriedenstellend: Die Genauigkeit reicht an die der verschiedenen CG-Bestimmungsmethoden mit Nagern heran, ist diesen aber in bezug auf Schnelligkeit

weit überlegen. Dazu kommt noch der Vorteil der wesentlich niedrigeren Kosten der Versuchstiere und deren Haltung.

Soll die Spermiationsreaktion zu einer Standardmethode für CG-Bestimmungen mit männlichen Kröten als Testtier werden, so müssen vor allem die verschiedenen Faktoren, die auf diese Reaktion Einfluß nehmen können, untersucht werden. Diese gliedern sich in zwei Gruppen: 1. kontrollierbare und 2. unkontrollierbare Faktoren. Zu der ersten Gruppe wären z. B. zu zählen: Tageszeit und Temperatur, bei der der Test durchgeführt wird, Art der Injektion (ob subcutan oder intraperitoneal) usw. Zu den unkontrollierbaren Faktoren gehören vor allem: jahreszeitliche und Tag-zu-Tag-Schwankungen der Empfindlichkeit der Versuchstiere und geographisch bedingte Unterschiede der Empfindlichkeit. Als bedingt unkontrollierbar wäre der Gewichtsfaktor zu bezeichnen; steht ein genügend großes Tiermaterial zur Verfügung, so wird es möglich sein, für eine quantitative Auswertung Tiere gleichen oder annähernd gleichen Gewichtes zu wählen. Diese Voraussetzung ist jedoch nicht immer gegeben und eine Kenntnis des Einflusses von Körpergewicht auf die Empfindlichkeit erscheint daher sehr wünschenswert, zumal darüber in der Literatur keine Angaben gefunden werden konnten.

In der vorliegenden Arbeit sollen nun einige der unkontrollierbaren Faktoren auf einen allfälligen Einfluß auf die Empfindlichkeit männlicher Kröten gegenüber CG untersucht werden; und zwar jahreszeitlich bedingte Schwankungen, Tag-zu-Tag-Schwankungen und der Einfluß des Körpergewichtes. Die Versuchsergebnisse sollen eine Grundlage bieten für die praktische Durchführung quantitativer CG-Bestimmungen und ferner einen Hinweis geben auf die Genauigkeit, die mit einer bestimmten Tierzahl pro Auswertung erwartet werden kann.

Material und Methodik.

Versuchstiere.

Als Versuchstiere dienten ausschließlich geschlechtsreife männliche Wechselkröten *(Bufo viridis)*. Alle Tiere wurden vom Verfasser selbst gefangen. Um ein möglichst einheitliches Tiermaterial zu gewährleisten, wurden nur Kröten eines geographisch eng begrenzten Raumes (ca. 3 km²) verwendet: südlicher Teil des „Seewinkels" um Illmitz, am Ostufer des Neusiedlersees (österreichisch-ungarische Grenze).

Choriongonadotropin (CG).

Für alle Versuche wurde ausschließlich das internationale Standardpräparat für Choriongonadotropin (0,1 mg = 1 iE.) verwendet.

Durchführung des Testes.

Allgemeine Versuchsbedingungen. Mit einer einzigen Ausnahme (Oktober 1951) wurden alle Auswertungen an frisch gefangenen Tieren, nach 1—2 Wochen Haltung unter Laboratoriumsbedingungen, durchgeführt. Alle Versuche erfolgten nachts (zwischen 19 und 5 Uhr) bei Zimmertemperatur (ca. 20° C). Nach der Injektion wurden die Kröten einzeln oder in kleinen Gruppen (höchstens 5 Tiere) in Glasbehältern, deren Boden mit feuchtem Zellstoff bedeckt war, bis zur Harnentnahme — drei Stunden nach der Injektion — gehalten.

Art der Injektion. Die Injektionslösungen wurden bereitet, indem von dem internationalen Standard eine Stammlösung in glasdestilliertem Wasser hergestellt

wurde; diese wurde dann mit glasdestilliertem Wasser entsprechend weiter verdünnt, so daß die gewünschte Menge CG in jeweils 1 ml Injektionsflüssigkeit enthalten war. Nur frisch bereitete Lösungen kamen zur Verwendung.

Die Injektion erfolgte mit einer 2 ml Rekordspritze und feiner Nadel (No 18) subcutan in den dorsalen Lymphsack der Kröten. Um einen Rückfluß des Injektionsmaterials mit Sicherheit ausschließen zu können, wurde bei der Injektion am Oberschenkel eingestochen, die Oberschenkelmuskulatur von caudal her durchstochen und die Nadelspitze cranialwärts unter der Rückenhaut bis in den Bereich des dorsalen Lymphsackes vorgeschoben.

Beurteilung der Reaktion. 3—3½ Std nach der Injektion wurde eine Urinprobe aus der Kloake mittels feiner Glaspipette entnommen, ein Tropfen Harn auf einen Objektträger gebracht, mit Deckglas bedeckt und unter dem Mikroskop bei 100facher Vergrößerung auf Spermatozoen untersucht. Bewertet wurde nur Vorhandensein oder Fehlen von Spermatozoen; im ersten Fall wurde das Resultat als +, im letzten als — notiert.

Statistische Behandlung der Versuchsergebnisse.

Um Wiederholungen bei der Besprechung der einzelnen Versuche zu vermeiden und um gleichzeitig einen Überblick über die verwendeten statistischen Methoden zu geben, soll im folgenden die statistische Auswertung der Ergebnisse beschrieben werden.

Die Reaktion eines Tieres auf eine bestimmte Dosis CG wurde nur mit + oder — beurteilt, d. h. sie wurde als Alles-oder-Nichts-Reaktion behandelt.

Demnach ist die Information, die *ein* Tier über die ihm verabfolgte Dosis gibt, beschränkt auf: Diese Dosis war größer als seine individuelle Schwellendosis (Reaktion) oder sie war kleiner (keine Reaktion). Daraus ergibt sich, daß einer größeren Anzahl von Tieren die *gleiche* Dosis verabreicht werden muß, um so — unter Annahme, daß die individuellen Schwellendosen im ganzen Tierkollektiv eine normale Häufigkeitsverteilung aufweisen — aus dem Prozentsatz der reagierenden Tiere, Schlüsse auf die Wirksamkeit dieser Dosis ziehen zu können. Um ferner Aufschluß über die Beziehung zwischen Größe der Dosis und Stärke der Wirkung zu erhalten, müssen darüber hinaus noch verschiedene Dosen verschiedenen Tiergruppen gegeben werden.

Es wurden daher bei allen Versuchen verschiedene Dosen von CG einer jeweils gleich großen Tierzahl gegeben und das Resultat als Verhältnis der reagierenden zu der Gesamtzahl der Tiere in den einzelnen Gruppen notiert. Auf diese Weise wurden für die verschiedenen Dosen Wirkungsprozentsätze erhalten. Um die Relation zwischen Dosis und Wirkung näher zu untersuchen, bzw. die Ergebnisse mehrerer Auswertungen miteinander vergleichen zu können, wurde die Regression von Wirkung auf Dosis in Form von Regressionslinien dargestellt.

Berechnung der Regressionslinien.

Es hatte sich gezeigt, daß die Beziehung zwischen der Dosis von CG und deren Wirkung auf männliche Kröten eine lineare ist, wenn eine

doppelte Transformation durchgeführt wird: 1. logarithmische Transformation der Dosen und 2. Probittransformation der Wirkungsprozentsätze (Frazer und Wohlzogen, 1951; Wohlzogen und Halama, 1951a).

Die Berechnung der Regressionslinien gestaltete sich in der üblichen Weise (Finney, 1952): Eintragen der gefundenen Punkte (Verhältnis der reagierenden zu der Gesamtzahl der Tiere in der jeweiligen Dosisgruppe) in ein Koordinatensystem, auf dessen Abszissenachse die Logarithmen der Dosen (in iE.) aufgetragen sind und dessen Ordinatenachse die Wirkungsprozentsätze in Probits darstellt. Durch die so gefundene Punkteschar wird eine Gerade gelegt, auf Grund deren die erste Annäherung der Regressionslinie berechnet wird. Falls erforderlich, wurden weitere Annäherungen, immer unter Zugrundelegen der zuletzt gefundenen Regressionslinie, berechnet; dies wurde solange fortgesetzt, bis sich die Probits in zwei aufeinanderfolgenden Annäherungen um weniger als 0,01 unterschieden.

So wurde für jede Auswertung eine Regressionslinie von der allgemeinen Form

$$E = \bar{Y} + b\,(X - \bar{X}) \qquad (1)$$

erhalten; dabei ist

$$\bar{Y} = \frac{Snw\,Y}{Snw},\ \bar{X} = \frac{Snw\,X}{Snw} \text{ und } b = \frac{Snwxy}{Snwx^2}.$$

Der nächste Schritt war, in jedem Fall zu prüfen, ob die berechnete Regressionslinie eine adäquate Repräsentation der experimentell gefundenen Daten darstellt; es wurde untersucht, ob die Abweichungen der einzelnen Punkte von der Regressionsgeraden als durch Zufall bedingt angesehen werden konnten, d. h. es wurde geprüft, ob die Annahme einer linearen Beziehung zwischen Dosis und Wirkung innerhalb der Fehlergrenze zu Recht besteht.

Im vorliegenden Falle könnte eine Nichtlinearität der Beziehung zwischen Dosis und Wirkung zweierlei bedeuten:

1. Die individuellen Schwellendosen bzw. deren Logarithmen, folgen keiner normalen Häufigkeitsverteilung.

2. Es besteht eine Heterogenität zwischen den einzelnen Gruppen, so zwar, daß die individuellen Schwellendosen in den verschiedenen Tiergruppen, die die gleiche Dosis erhalten hatten, von Gruppe zu Gruppe signifikant verschieden sind. Dabei können aber die individuellen Schwellendosen des gesamten Tierkollektivs eine normale Häufigkeitsverteilung zeigen und die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen durch unvollkommene zufallsmäßige Auslese *(randomization)* bedingt sein.

Die Prüfung auf Linearität erfolgt mit Hilfe des χ^2-Testes. Die verwendete Formel lautet:

$$\chi^2 = Snwy^2 - b \cdot Snwxy \qquad (2)$$

und die Anzahl der Freiheitsgrade berechnet sich aus $k - 2$, wobei k die Anzahl der Dosisgruppen ist.

Daß in diesem Falle die Zahl der Freiheitsgrade um zwei weniger ist als die Anzahl der Beobachtungen, auf Grund deren die Regressionslinie berechnet wurde, erklärt sich daraus, daß ein zusätzlicher Freiheitsgrad für die Berechnung des b

verloren gegangen ist. Demzufolge ergibt sich, daß in einem Test, bei dem die Regressionslinie aus nur zwei Dosisgruppen bestimmt wird, kein Freiheitsgrad zur Untersuchung auf Abweichungen von Linearität übrigt bleibt; dies ist auch ganz folgerichtig, da sich zwei Punkte immer durch eine Gerade verbinden lassen!

Hatte der χ^2-Test ergeben, daß kein Anhalt für eine signifikante Abweichung von Linearität besteht, so wurde schließlich noch die mittlere wirksame Dosis (ED 50) berechnet, d. h. diejenige Dosis, die erwartungsgemäß bei 50% der Versuchstiere eine Reaktion auslöst. Die Berechnung der ED 50 erfolgt einfach aus Formel (1) durch Gleichsetzen von $E = 5$ (d. i. der Probitwert für einen Wirkungsprozentsatz von 50%), woraus sich nach Umformung ergibt

$$\log \text{ED } 50 = \overline{X} + \frac{5 - \overline{Y}}{b} \tag{3}$$

Die Berechnung der Mutungsgrenzen (*fiducial limits* = *f. l.*) für die ED 50 erfolgte nach der Formel (Bliss, 1935)

$$\log \text{ED } 50 = \overline{X} + \frac{C(5 - \overline{Y})}{b} \pm \frac{t\sqrt{C}}{b} \sqrt{V\overline{Y} + \frac{C \cdot Vb \cdot (5 - \overline{Y})^2}{b^2}} \tag{4}$$

wobei

$$C = \frac{b^2}{b^2 - t^2 \cdot Vb} \tag{5}$$

und

$$V\overline{Y} = \frac{1}{Snw}, \qquad Vb = \frac{1}{Snwx^2} \tag{6} \quad (7)$$

t ist die *normal deviate* für die gewählte Wahrscheinlichkeitsstufe.

Vereinigung von Auswertungen.

In manchen Fällen ergab es sich, daß zwei oder mehr Auswertungen zur Berechnung einer gemeinsamen Regressionslinie miteinander vereinigt werden sollten.

Das Problem der Vereinigung mehrerer Auswertungen ist von Perry (1950) eingehend behandelt worden. Mit einer einzigen Ausnahme (s. S. 497) wurde in allen Fällen die von ihm vorgeschlagene Art der Vereinigung durchgeführt. Es wurden also nicht die Reaktionen in entsprechenden Dosisgruppen der einzelnen Auswertungen einfach summiert und dann auf Grund der so gefundenen Wirkungsprozentsätze eine Dosis-Wirkungslinie konstruiert, sondern es wurde vielmehr für jede Auswertung eine Regressionslinie berechnet und diese unter Erhalt gewichteter Mittel vereinigt.

Eine Vereinigung der Regressionslinien zweier oder mehrerer Auswertungen miteinander erfolgte unter der Annahme, daß die Regression von Wirkung auf Dosis in allen Fällen die gleiche war und die einzelnen Regressionslinien nur Stichproben einer einheitlichen Relation darstellten. Die Berechtigung dieser Annahme wurde in jedem Falle geprüft: Es wurde untersucht, ob einerseits die Neigung, andererseits die Position der Linien signifikant voneinander abwichen. Nur wenn dies nicht der Fall war, wurde eine Vereinigung durchgeführt.

Der Vorgang war kurz folgender: Durch die in den einzelnen Auswertungen erhaltenen Punkte wurden entweder eine einzige oder mehrere, zueinander parallel verlaufende Linien gelegt und auf Grund dieser die einzelnen Regressionslinien berechnet. Die gemeinsame Neigung b_c ergibt sich aus der Formel

$$b_c = \frac{\Sigma Snwxy}{\Sigma Snwx^2} \tag{8}$$

Für die gesamte Streuung ergibt sich ein χ^2 durch entsprechende Modifikation der Formel (2):

$$\chi^2 = \Sigma Snwy^2 - b_c \cdot \Sigma Snwxy.$$

Dieses χ^2 läßt sich in zwei Komponenten zerlegen: 1. Abweichungen von Linearität und 2. Abweichungen von Parallelität. Die Abweichungen von Linearität entsprechen der Summe der χ^2 der einzelnen Regressionslinien [siehe Formel (2)]. Die Anzahl der Freiheitsgrade ergibt sich aus der Summe der Freiheitsgrade der einzelnen χ^2, ist also $N(k-2)$, wenn gleich viel Dosisgruppen (k) in jeder Auswertung verwendet wurden und N die Anzahl der Auswertungen bedeutet. Das χ^2 für Abweichungen von Parallelität hat die Formel:

$$\chi^2 = \Sigma b \cdot Snwxy - b_c \cdot \Sigma Snwxy.$$

Die Anzahl der Freiheitsgrade beträgt $N-1$, wobei N, wie oben, für die Zahl der Auswertungen steht.

Daraus kann folgende Analyse des χ^2 konstruiert werden:

Streuungsursache	Freiheitsgrade	Formel für χ^2
Linearität	$N\,(k-2)$	$\Sigma Snwy^2 \quad - \Sigma b \cdot Snwxy$
Parallelität	$N-1$	$\Sigma b \cdot Snwxy - b_c \cdot \Sigma Snwxy$
Insgesamt	$N\,(k-1)-1$	$\Sigma Snwy^2 \quad - b_c \cdot \Sigma Snwxy$

Ergab die Analyse keine signifikanten Abweichungen von Linearität und Parallelität, so war schließlich noch zu prüfen, ob die Positionen der in Frage stehenden Regressionslinien eine Vereinigung derselben rechtfertigen. Hierzu wurde die relative Wirksamkeit des CG in den einzelnen Bestimmungen berechnet, was einer Untersuchung der relativen Empfindlichkeit der Tiere in den Auswertungen gleichkommt, da ja immer das gleiche Präparat, der internationale Standard, verwendet wurde.

Die relative Wirksamkeit ergibt sich aus der Formel:

$$M = \overline{X}_1 - \overline{X}_2 - \frac{1}{b_c} \cdot (\overline{Y}_1 - \overline{Y}_2) \tag{9}$$

M ist hierbei der Logarithmus der relativen Wirksamkeit, bzw. Empfindlichkeit. Eine Vereinigung von Auswertungen erschien nur dann gerechtfertigt, wenn M nicht signifikant von Null verschieden war, d. h. wenn die *f. l.* für M einen negativen und einen positiven Wert ergaben, so daß sie,

nach Entlogarithmieren, den Wert 1 für die relative Empfindlichkeit einschlossen. Die Berechnung der *f. l.* erfolgte in Analogie zu Formel (4):

$$L = \bar{X}_1 - \bar{X}_2 - \frac{C(\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2)}{b_c} \pm \frac{t\sqrt{C}}{b_c}\sqrt{V\bar{Y}_1 + V\bar{Y}_2 + \frac{C \cdot Vb_c \cdot (\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2)^2}{b_c^2}} \quad (10)$$

wobei $$Vb_c = \frac{1}{\Sigma Snwx^2}$$

und für C, $V\bar{Y}$ und b_c die Formeln (5), (6) und (8) gelten.

Wenn die für die Vereinigung in Frage stehenden Regressionslinien sich innerhalb der Fehlergrenze in ihrem Verlauf als parallel und in ihrer Position als identisch erwiesen hatten, so konnten sie als Stichproben der tatsächlichen Relation zwischen Dosis und Wirkung aufgefaßt werden und eine Vereinigung erschien angebracht. Die Gleichung der vereinigten Regressionslinie wurde durch Einsetzen der Werte $\bar{\bar{X}}$, $\bar{\bar{Y}}$ und b_c an Stelle von $\bar{X}$, $\bar{Y}$ und b in Formel (1) erhalten, wobei $\bar{\bar{X}} = \frac{\Sigma SnwX}{\Sigma Snw}$, $\bar{\bar{Y}} = \frac{\Sigma SnwY}{\Sigma Snw}$ und b_c sich aus Formel (8) ergibt. Durch entsprechendes Einsetzen dieser Werte in Formel (3) und (4) wurde schließlich die gemeinsame ED 50 und deren *f. l.* erhalten; dabei ist $V\bar{Y}$ sinngemäß durch $V\bar{\bar{Y}} = \frac{1}{\Sigma Snw}$ zu ersetzen.

Vergleich von Auswertungen.

Für den Vergleich von Auswertungen wurde in analoger Weise, wie oben für die Vereinigung von Auswertungen beschrieben, vorgegangen. Es wurden immer nur Versuche verglichen, die untereinander — innerhalb der Fehlergrenze — parallel verlaufende Regressionslinien ergeben hatten. Die Berechnung von M und dessen *f. l.* erfolgte nach den Formeln (9) und (10).

Es bleibt noch abschließend zu besprechen, wie die Ergebnisse vereinigter Auswertungen miteinander verglichen wurden.

Bei jeder Vereinigung von Auswertungen wurden die Werte $\bar{\bar{X}}$, $\bar{\bar{Y}}$ und $V\bar{\bar{Y}}$ erhalten. Analog dem b_c bei Vereinigung von Auswertungen ergibt sich die gemeinsame Neigung der Regressionslinien beim Vergleich von vereinigten Auswertungen nach der Formel

$$\bar{b}_c = \frac{\Sigma\Sigma Snwxy}{\Sigma\Sigma Snwx^2} \quad (11)$$

mit der Varianz $V\bar{b}_c = \frac{1}{\Sigma\Sigma Snwx^2}$. Der Logarithmus der relativen Empfindlichkeit ist dann, in Analogie zu Formel (9):

$$\bar{M} = \bar{\bar{X}}_1 - \bar{\bar{X}}_2 - \frac{1}{\bar{b}_c} \cdot (\bar{\bar{Y}}_1 - \bar{\bar{Y}}_2) \quad (12)$$

Die *f. l.* ergeben sich durch Einsetzen der Werte $\bar{\bar{X}}$, $\bar{b}_c$ usw. in Formel (10).

Die Prüfung auf Linearität und Parallelität erfolgt wieder im χ^2-Test. Ähnlich wie bei der Vereinigung von Auswertungen (vgl. S. 487) ergibt sich folgende Analyse des χ^2:

Streuungsursache	Freiheitsgrade	Formel für χ^2
Linearität	$N\,(k-2)$	$\Sigma\Sigma\, Snwy^2 - \Sigma\, b_c\ \Sigma\, Snwxy$
Parallelität	$N-1$	$\Sigma\, b_c\ \Sigma\, Snwxy - \overline{b_c}\ \Sigma\Sigma\, Snwxy$
Insgesamt	$N\,(k-1)-1$	$\Sigma\Sigma\, Snwy^2 - \overline{b_c}\ \Sigma\Sigma\, Snwxy$

Hierbei ist zu beachten, daß N hier für die Anzahl der *vereinigten* Auswertungen steht, während k die — immer gleich gehaltene — Anzahl der Dosisgruppen pro *vereinigte* Auswertung bedeutet.

Damit sind sämtliche in der Arbeit durchgeführten statistischen Untersuchungen und die dabei verwendeten Formeln zusammengefaßt; in den nun folgenden Besprechungen der Versuche werden nur die Ergebnisse der Prüfungen und Ausrechnungen mitgeteilt werden. Die detaillierten Berechnungen können wegen ihres beträchtlichen Umfanges nicht wiedergegeben werden; sie liegen mit den Versuchsprotokollen im Physiologischen Institut der Universität Wien auf und können dort eingesehen werden.

Untersuchungen über jahreszeitliche Schwankungen der Empfindlichkeit.

Die Versuche über jahreszeitlich bedingte Schwankungen der Empfindlichkeit der Kröten gegenüber CG wurden in den Jahren 1950 und 1951 durchgeführt. Dabei wurde innerhalb eines Jahres für jede Auswertung eine gleich große Tierzahl verwendet, die Dosen in jeweils den gleichen logarithmischen Abständen gewählt und gleichviel Tiere jeder Dosisgruppe zugeteilt. Auf diese Weise wurden vergleichbare Versuche angestellt im Frühjahr und Herbst 1950 und im Frühjahr, Sommer und Herbst 1951.

Versuche im Frühjahr und Herbst 1950.

Die Versuche wurden an insgesamt 180 männlichen Wechselkröten, je 90 im Frühjahr und Herbst, durchgeführt.

Die Frühjahrskröten hatten alle ein Gewicht zwischen 17 und 20 g. 60 Tiere waren Ende März gefangen worden und kamen in der ersten Aprilhälfte zum Versuch, 30 Ende April gefangene Kröten wurden anfangs Mai ausgewertet. Von den Kröten für die Herbstversuche waren 50 in der letzten Augustwoche und 40 in der letzten Septemberwoche gefangen worden. Beide Gruppen wurden eine Woche nach dem Fang getestet. Da das Gewicht der Herbstkröten beträchtliche Unterschiede aufwies, wurden diese außerdem in 3 Gewichtsklassen eingeteilt, und zwar 10—15 g, 15—20 g und 20—25 g. Die einzelnen Klassen wurden gleichmäßig auf die verschiedenen Dosisgruppen verteilt. Im Frühjahr und im Herbst wurden je 5 verschiedene Dosen gegeben, und zwar betrug die höchste Frühjahrsdosis 5 iE. CG, die höchste Dosis im Herbst 12,5 iE. CG, jede folgende Dosis war in beiden Fällen $^3/_4$ der höheren. Es blieben also die Abstände der Logarithmen der Dosen gleich, nur war jede Herbstdosis das 2,5fache der entsprechenden Frühjahrsdosis.

Die Versuchsergebnisse sind in Tab. 1 zusammengefaßt.

Die Analyse dieser Versuchsdaten wurde nach folgenden Gesichtspunkten vorgenommen: Erstens war zu untersuchen, ob die Ergebnisse von April und Mai einerseits und September und Oktober andererseits eine Vereinigung zu einer gemeinsamen Frühjahrs- bzw. Herbstauswertung

zulassen und zweitens waren die Frühjahrs- und Herbstbefunde hinsichtlich Empfindlichkeit der Kröten während dieser Jahreszeiten miteinander zu vergleichen.

Tabelle 1. *Ergebnisse der Versuche des Jahres 1950.*

Frühjahr			Herbst		
Dosis (iE.)	Reaktion April	Mai	Dosis (iE.)	Reaktion September	Oktober
1,58	1/12	1/6	3,96	3/10	1/8
2,11	3/12	2/6	5,27	4/10	5/8
2,81	6/12	3/6	7,03	9/10	5/8
3,75	8/12	5/6	9,38	9/10	7/8
5,00	12/12	6/6	12,50	10/10	8/8

Die Brüche bedeuten: Anzahl der reagierenden Tiere zur Gesamtzahl der Tiere in der Gruppe.

Hierzu wurden für jede Auswertung die Regressionslinien berechnet.

April: $E = 2{,}340 + 5{,}953\ X$
Mai: $E = 2{,}751 + 5{,}627\ X$
September: $E = 0{,}778 + 5{,}949\ X$
Oktober: $E = 0{,}724 + 5{,}729\ X$

Zunächst sei die Vereinigung der April- und Mai-, und September- und Oktoberergebnisse zu einer gemeinsamen Frühjahrs-, bzw. Herbstregressionslinie besprochen.

Zur Untersuchung auf einen innerhalb der Fehlergrenze parallelen Verlauf der Linien wurde die Analyse des χ^2 durchgeführt (siehe Tab. 2). Daraus geht hervor, daß weder für die Frühjahrs- noch für die Herbstergebnisse ein Anhalt für signifikante Abweichungen von Parallelität besteht.

Tabelle 2. *χ^2-Analyse der Ergebnisse des Jahres 1950.*

Streuungsursache	Freiheitsgrade	χ^2	P
	April und Mai		
Linearität	6	2,585	$> 0{,}80$
Parallelität	1	0,022	$> 0{,}80$
Insgesamt	7	2,607	
	September und Oktober		
Linearität	6	3,773	$> 0{,}70$
Parallelität	1	0,009	$> 0{,}90$
Insgesamt	7	3,782	
	Frühjahr und Herbst		
Linearität	16	6,388	$> 0{,}98$
Parallelität	1	1×10^{-5}	$> 0{,}99$
Insgesamt	17	6,388	

Die Berechnung der relativen Empfindlichkeit *innerhalb* der beiden Jahreszeiten ergab, daß diese im Mai gegenüber April 1,11 mit den *f. l.* ($P = 0{,}05$) von 0,58—1,48, im Oktober gegenüber September 0,92 mit den *f. l.* ($P = 0{,}05$) von 0,68—1,19 betrug. In beiden Fällen lag also der Wert 1 für die relative Empfindlichkeit innerhalb der Fehlerbreite und damit erschien, im Verein mit den insignifikant kleinen χ^2 für Abweichungen von Parallelität, eine Vereinigung der April- und Maiergebnisse zu einer gemeinsamen Frühjahrsregressionslinie und der September- und Oktoberergebnisse zu einer gemeinsamen Herbstregressionslinie gerechtfertigt.

Die Berechnung der gemeinsamen Regressionslinien ergab folgende Gleichungen:

$$\text{Frühjahr:} \quad E = 2{,}477 + 5{,}844\,X$$
$$\text{Herbst:} \quad E = 0{,}754 + 5{,}851\,X$$

und daraus die ED 50

Frühjahr: ED 50 = 2,70 iE., *f. l.* ($P = 0{,}05$) 2,37—3,07 iE.
Herbst: ED 50 = 5,32 iE., *f. l.* ($P = 0{,}05$) 4,50—6,04 iE.

Schließlich waren noch, zur Untersuchung der jahreszeitlich bedingten Empfindlichkeitsschwankungen, die Frühjahrs- und Herbstergebnisse miteinander zu vergleichen.

Die Regressionslinien für Frühjahr und Herbst zeigten fast identische Neigungen, nur war die Position der Herbstlinie gegenüber der Frühjahrslinie beträchtlich nach rechts verschoben, was auf eine Empfindlichkeitsabnahme deutet, die auch aus der fast doppelt so hohen ED 50 hervorgeht. Diese Verhältnisse sind in Abb. 1 veranschaulicht.

Es wurde vorerst im χ^2-Test die Annahme eines parallelen Verlaufes der Regressionslinien entsprechend dem auf S. 489 aufgestellten Schema geprüft (siehe Tab. 2).

Daraus geht hervor, daß der weitaus größere Anteil des gesamten χ^2 durch Streuung der Punkte um die entsprechenden Regressionslinien erklärt wird und die Abweichung derselben von einem parallelen Verlauf mit über 99% Wahrscheinlichkeit als durch Zufall bedingt angesehen werden kann.

Es wurde daher für den Vergleich der vereinigten Frühjahrs- und Herbstauswertungen eine gemeinsame Neigung nach Formel (11) berechnet: $b_c = 5{,}84776$ und $\overline{Vb_c} = 0{,}07484$.

Für die relative Empfindlichkeit der Kröten gegenüber CG im Frühjahr verglichen mit Herbst ergab sich nach Formel (12) ein Wert von 1,97 mit den *f. l.* ($P = 0{,}05$) von 1,63—2,35, was einer Genauigkeit der Bestimmung von 83—119% gleichkommt. Es besteht demnach ein signifikanter Unterschied der Empfindlichkeit, und zwar ist diese im Frühjahr ungefähr doppelt so hoch wie im Herbst.

Dieser Unterschied ist statistisch hoch gesichert, da auch bei einer Berechnung der *f. l.* für die 99,9%-Wahrscheinlichkeitsstufe ($P = 0{,}001$) die untere Grenze mit 1,38 noch über 1 liegt.

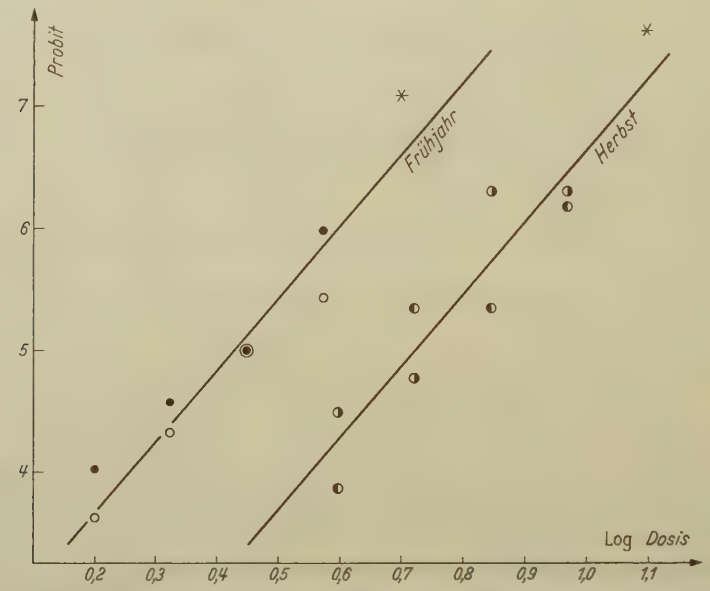


Abb. 1. Frühjahrs- und Herbstregressionslinie der Versuche des Jahres 1950. Die Punkte bedeuten: Reaktion männlicher *B. viridis* (Wirkungsprozentsatz, gemessen in Probits) auf CG (gemessen in log iE.), u. zw. ○ im April, ● im Mai, ◑ im September und ◐ im Oktober. * entsprechen Dosen, die 100% Reaktion auslösten.

Tabelle 3. *Ergebnisse der Versuche des Jahres 1951.*

Dosis (iE.)	Reaktion				
	Mai	Juni	August (1)	August (2)	Oktober
1,4	4/30	8/30	—	—	—
2,0	18/30	16/30	9/30	9/30	0/30
2,8	27/30	26/30	14/30	17/30	7/30
4,0	—	—	27/30	27/30	17/30

Die Brüche bedeuten: Anzahl der reagierenden Tiere zur Gesamtzahl der Tiere in der Gruppe.

Versuche im Frühjahr, Sommer und Herbst 1951.

Je 90 männliche Wechselkröten wurden im Mai, Juni, August (2mal) und Oktober auf ihre Empfindlichkeit gegenüber CG untersucht.

In jedem Falle wurden je 30 Tieren drei verschiedene Dosen von CG gegeben. Die Dosen nahmen mit dem Faktor $\sqrt{2}$ zu, so daß die höchste Dosis jeweils das doppelte der niedrigsten betrug. Außerdem war jede der im August und Oktober verabfolgten Dosen ebenfalls um den Faktor $\sqrt{2}$ höher als die entsprechenden Frühjahrsdosen. Die Ergebnisse sind in Tab. 3 zusammengefaßt.

An Hand dieser Daten wurde die relative Empfindlichkeit der Kröten in den einzelnen Auswertungen untersucht. Dazu wurden vorerst die Regressionslinien für jeden der Teste berechnet, die Gültigkeit dieser Linien und der Annahme eines parallelen Verlaufes durch die Analyse des χ^2 geprüft und schließlich die relative Wirksamkeit, bezogen auf die im Oktober gefundene, berechnet.

Für die einzelnen Regressionslinien wurden folgende Gleichungen erhalten:

Mai: $E = 2{,}806 + 7{,}822\ X$
Juni: $E = 3{,}477 + 5{,}655\ X$
August (1): $E = 2{,}613 + 5{,}703\ X$
August (2): $E = 2{,}654 + 5{,}838\ X$
Oktober: $E = 0{,}722 + 7{,}494\ X$

Die Analyse des χ^2 ist in Tab. 4 wiedergegeben.

Tabelle 4. *χ^2-Analyse der Ergebnisse des Jahres 1951.*

Streuungsursache	Freiheitsgrade	χ^2	P
Linearität	5	4,344	$> 0{,}50$
Parallelität	4	2,558	$> 0{,}50$
Insgesamt	9	6,902	

Aus dieser Analyse geht hervor, daß sowohl eine lineare Beziehung zwischen Dosis und Wirkung als auch ein paralleler Verlauf der einzelnen Regressionslinien zu Recht angenommen werden kann. Daraus ergibt sich ferner, daß die Auswertungen zu den verschiedenen Jahreszeiten untereinander vergleichbar sind und es wurde nun die relative Empfindlichkeit der Kröten in den einzelnen Versuchen bestimmt.

Zuerst seien noch die Werte für die einzelnen mittleren wirksamen Dosen angegeben.

Diese wurden so berechnet, daß parallele Linien mit der gemeinsamen Neigung $b_c = 6{,}45318$ durch die Punkte $\overline{X}$, $\overline{Y}$ jeder Auswertung gelegt wurden und die Ordinaten der Schnittpunkte dieser Regressionslinien mit der Abszisse entsprechend einem Probit von 5 bestimmt wurden (s. Abb. 2). Es ist dies eine logische Abänderung des gewöhnlichen Vorganges der Bestimmung der ED 50, der in dem Gleichsetzen von $E = 5$ in den oben angeführten Regressionsgleichungen bestünde. Da aber entsprechend der Analyse des χ^2 kein signifikanter Unterschied zwischen den Neigungen der Regressionslinien besteht, können die in den einzelnen Versuchen erhaltenen Werte für b als Stichproben der „wahren" Neigung aufgefaßt werden, die dann durch b_c genauer bestimmt ist als durch die individuellen b. Die Regressionslinie mit einer Neigung b_c durch den Punkt $\overline{X}$, $\overline{Y}$ laufen zu lassen, hat

seinen Grund darin, daß die Varianz dieses Punktes minimal ist, d. h. daß der durch eine bestimmte Dosis ausgelöste Wirkungsprozentsatz in diesem Punkt am genauesten bestimmt ist.

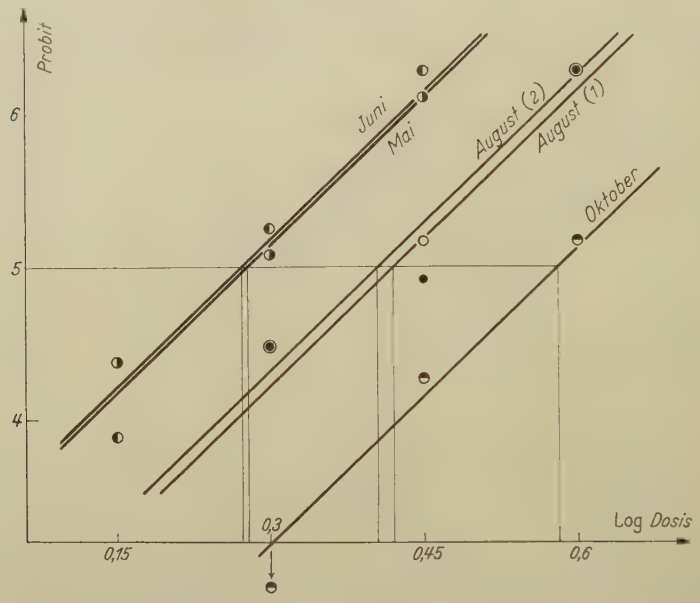


Abb. 2. Regressionslinien (mit der gemeinsamen Neigung b_c) der Reaktionen männlicher *B. viridis* auf CG in den Versuchen des Jahres 1951. Jeder Punkt repräsentiert das Ergebnis (Wirkungsprozentsatz in Probits gegen log iE. CG) an einer Gruppe von 30 Tieren. Die Ordinaten der Schnittpunkte der Regressionslinien mit der Abszisse entsprechend einem Probit von 5 ergeben die log der entsprechenden ED 50. Die horizontale Distanz zwischen den Regressionslinien entspricht dem log der relativen Wirksamkeit.

Mai:	ED 50 = 1,90 iE.
Juni:	ED 50 = 1,87 iE.
August (1):	ED 50 = 2,64 iE.
August (2):	ED 50 = 2,54 iE.
Oktober:	ED 50 = 3,82 iE.

Schon aus dem Vergleich dieser Werte geht hervor, daß die Empfindlichkeit der Kröten im Frühjahr (Mai und Juni) am höchsten war, und zwar wieder etwa doppelt so groß wie im Herbst. Die Berechnung der relativen Empfindlichkeit, bezogen auf die Empfindlichkeit im Oktober, ergab folgende Werte:

Mai:	2,01, *f. l.*	($P = 0{,}05$) 1,73—2,32;	Genauigkeit: 86—116%.
Juni:	2,04, *f. l.*	($P = 0{,}05$) 1,75—2,36;	Genauigkeit: 86—116%.
August (1):	1,45, *f. l.*	($P = 0{,}05$) 1,24—1,71;	Genauigkeit: 86—118%.
August (2):	1,50, *f. l.*	($P = 0{,}05$) 1,29—1,78;	Genauigkeit: 86—118%.

Auch hier wurden, wie bei den Versuchen des Jahres 1950, die *f. l.* der relativen Wirksamkeit für die 99,9% Wahrscheinlichkeitsstufe berechnet; dabei wurden folgende Werte — bezogen auf Oktober — gefunden:

Mai:	1,57—2,69
Juni:	1,59—2,73
August (1):	1,13—1,94
August (2):	1,17—2,02

Da in allen Fällen die unteren Grenzen über 1 lagen, erschien die höhere Empfindlichkeit der Kröten sowohl während der Frühjahrs-, wie auch der Sommermonate gegenüber Herbst als statistisch hoch gesichert.

Schließlich war noch die Frage zu untersuchen, ob sich auch die Frühjahrs- und Sommerbefunde wesentlich voneinander unterschieden. In Anbetracht der ähnlichen Ergebnisse im Mai und Juni einerseits und im August andererseits, wurde zuerst auf Zulässigkeit der Vereinigung der Versuche zu einer gemeinsamen Frühjahrs- bzw. Sommerregressionslinie untersucht. Darüber wird im nächsten Abschnitt, über Untersuchungen der Tag-zu-Tag-Schwankungen, berichtet werden. Es sei hier nur vorweggenommen, daß weder für die Mai-Juni-Ergebnisse, noch für die Augustergebnisse ein Anhalt für signifikante Unterschiede gefunden werden konnte; aus ersteren wurde daher eine gemeinsame Frühjahrsregressionslinie, aus letzteren eine Sommerregressionslinie berechnet und an Hand dieser vereinigten Daten auf signifikante Empfindlichkeitsänderung im Sommer gegenüber Frühjahr getestet.

Die Berechnung der relativen Empfindlichkeit im Frühjahr bezogen auf die des Sommers ergab den Wert 1,38, mit den *f. l.* ($P = 0{,}05$) 1,24—1,53 (Genauigkeit: 90—111%).

Der Unterschied ist statistisch hoch gesichert, da die *f. l.* berechnet für $P = 0{,}001$ mit 1,15—1,68 außerhalb 1 liegen.

Abschließend sei noch darauf hingewiesen, daß die Oktoberergebnisse nicht — wie in allen übrigen Fällen — an frisch gefangenen Kröten erhalten wurden, sondern daß hierfür 90 der 180 im August gefangenen Kröten zur Verwendung kamen, die unter Einhaltung streng zufallsmäßiger Auslese ausgewählt worden waren. Auf die Bedeutung dieser Tatsache, daß Kröten jahreszeitliche Schwankungen ihrer Empfindlichkeit gegenüber CG zeigen, gleichgültig ob es sich um frisch gefangene Tiere oder um solche unter konstanten Bedingungen gehaltene handelt, wird in der Diskussion näher eingegangen werden.

Untersuchungen über Tag-zu-Tag-Schwankungen der Empfindlichkeit.

Die eben besprochenen Versuche hatten das Vorliegen ausgeprägter jahreszeitlicher Schwankungen der Empfindlichkeit männlicher Wechselkröten gegenüber CG gezeigt. Es sollte nun untersucht werden, ob solche Schwankungen auch innerhalb kürzerer Zeitabstände in Erscheinung treten. Dazu wurden die in den Tab. 1 und 3 wiedergegebenen Ergebnisse der Jahre 1950 und 1951 in dieser Hinsicht analysiert.

Zur Untersuchung standen folgende Fälle zur Verfügung:

1. Auswertungen an denselben Tieren.
2. Auswertungen an verschiedenen Tieren:
   a) zur gleichen Zeit gefangen;
   b) zu verschiedenen Zeiten gefangen.

Nach diesem Schema sollen nun die einzelnen Ergebnisse besprochen werden.

Untersuchungen an denselben Tieren.

Die Untersuchungen wurden an 45 Kröten (gefangen 8. und 9. Juni 1951) am 18. und 26. Juni 1951 durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tab. 5 wiedergegeben.

Tabelle 5. *Ergebnisse der Versuche im Juni 1951.*

Dosis (iE.)	Reaktion	
	18. 6. 1951	26. 6. 1951
1,4	5/15	3/15
2,0	6/15	10/15
2,8	13/15	13/15

Die Brüche bedeuten: Anzahl der reagierenden Tiere zur Gesamtzahl der Tiere in der Gruppe.

Die Untersuchungen auf signifikante Unterschiede zwischen den beiden Versuchsreihen wurden in der üblichen Weise vorgenommen: Berechnung der Regressionslinien, Analyse des χ^2 und Bestimmung der relativen Empfindlichkeit.

Die Berechnung der Regressionslinien ergab folgende Gleichungen:

1. Versuchsreihe: $E = 3{,}650 + 4{,}854\,X$
2. Versuchsreihe: $E = 3{,}285 + 6{,}546\,X$.

Das gesamte χ^2 ergab einen Wert von 3,011; damit sind 3 Freiheitsgrade verbunden und die Wahrscheinlichkeit, ein so großes oder größeres χ^2 durch zufallsbedingte Streuungen zu erhalten, ist $> 30\,\%$. Die Aufspaltung dieses χ^2 ergab einen Anteil für Abweichungen von Linearität: $\chi^2_{[2]} = 2{,}548$, und für Abweichungen von Parallelität: $\chi^2_{[1]} = 0{,}463$. Da für die 5 % Wahrscheinlichkeitsstufe ein χ^2 mit einem Freiheitsgrad einen Wert bis 3,841 und mit 2 Freiheitsgraden bis 5,991 erreichen darf, besteht kein Anhalt für tatsächliche Abweichungen von Linearität oder für einen signifikanten Unterschied der Neigung der Regressionslinien in den beiden Auswertungen.

Die Berechnung der relativen Empfindlichkeit ergab einen Wert von 1,05 mit den *f. l.* ($P = 0{,}05$) von 0,82—1,37. Da diese Grenzen den Wert 1 einschließen, erscheint die Annahme einer gleichen Empfindlichkeit während beider Teste als gerechtfertigt.

Es konnte also in dieser Untersuchung an 45 Kröten, die zweimal, in einem Abstand von einer Woche, der gleichen Behandlung unterworfen wurden, kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Versuchsergebnissen festgestellt werden.

In diesem Falle wurden auch die beiden Arten der Vereinigung von Auswertungen miteinander verglichen, nämlich die auf S. 486 ff. besprochene und die durch einfache Summierung der Ergebnisse. In beiden Fällen wurden fast identische Regressionslinien erhalten:

1. Durch Vereinigung der gewichteten Mittel: $E = 3{,}467 + 5{,}692\,X$.
2. Durch Summierung der einzelnen Reaktionen: $E = 3{,}466 + 5{,}692\,X$.

Damit erschien in diesem speziellen Falle — eine solche Übereinstimmung zwischen den beiden Methoden der Vereinigung ist keineswegs die Regel! — die zweite Vereinigungsart berechtigt: Es wurden also die beiden Versuche an je 45 Tieren vereinigt als ein Versuch an 90 Tieren gewertet; in dieser Form ist er in Tab. 3 wiedergegeben.

Untersuchungen an verschiedenen, zu gleicher Zeit gefangenen Tieren.

Für diese Untersuchungen standen 180 Kröten zur Verfügung, die alle zwischen 22. und 25. August gefangen worden waren und von denen je 90 am 30. und 31. August zum Versuch kamen. Die Ergebnisse wurden schon in Tab. 3, Spalte August (1) und (2), wiedergegeben.

Die in den beiden Versuchen angetroffene Gesamtstreuung entsprach einem $\chi^2_{[3]} = 2{,}842$, das bei Aufspaltung einen Anteil für Abweichungen von Linearität: $\chi^2_{[2]} = 2{,}837$, und für Abweichungen von Parallelität: $\chi^2_{[1]} = 0{,}005$ ergab, die beide insignifikant klein sind ($P > 0{,}20$, bzw. $P > 0{,}90$).

Die Berechnung der relativen Empfindlichkeit ergab einen Wert von 0,96, mit den *f. l.* ($P = 0{,}05$) von 0,83—1,12 (Genauigkeit: 86—116%). Demnach besteht kein Anhalt zur Annahme einer verschiedenen Empfindlichkeit der Kröten in den beiden Versuchsreihen.

Untersuchungen an verschiedenen, zu verschiedenen Zeiten gefangenen Tieren.

Hierher gehören die Versuche an je 90 Kröten im Frühjahr bzw. Herbst 1950. Die Ergebnisse dieser Versuche wurden schon analysiert (s. S. 489ff.); dabei hatte sich ergeben, daß weder die Ergebnisse im April und Mai signifikante Unterschiede aufwiesen, noch die von September und Oktober.

Als dritter Befund sind hier noch die Ergebnisse von Mai und Juni 1951 miteinander zu vergleichen. Sie wurden bereits in Tab. 3 wiedergegeben. Das zeitliche Intervall zwischen diesen beiden Versuchsreihen betrug 5 Wochen; in beiden Fällen waren die Kröten eine Woche vorher gefangen worden.

Auch hier zeigte die Aufspaltung des gesamten $\chi^2_{[3]} = 2{,}074$ keinen signifikanten Anteil für Abweichungen von Parallelität ($\chi^2_{[1]} = 1{,}507$, $P > 0{,}20$). Die Berechnung der relativen Empfindlichkeit — bezogen auf Mai — ergab einen Wert von 0,99, mit den *f. l.* ($P = 0{,}05$) 0,85—1,14 (Genauigkeit: 86—115%), so daß von keiner signifikanten Änderung der Empfindlichkeit im Juni gegenüber Mai gesprochen werden kann.

Untersuchungen über den Einfluß des Körpergewichts auf die Empfindlichkeit.

Eine Analyse auf gewichtsbedingte Unterschiede der Empfindlichkeit wurde an denjenigen Auswertungen durchgeführt, in denen das Gewicht der dabei verwendeten Kröten größere Unterschiede aufwies. Es sind dies die Versuche vom Herbst 1950, Mai, Juni und August 1951.

In allen diesen Versuchen waren die Kröten in Gewichtsklassen von 5 zu 5 g eingeteilt worden. Die einzelnen Gewichtsklassen wurden dann gleichmäßig auf die einzelnen Dosisgruppen verteilt, so daß untereinander gleich viel Kröten jeder Gewichtsklasse in jeder Dosisgruppe vertreten waren bzw. in jeder Gewichtsklasse ein gleich großer Anteil der gleichen Behandlung unterworfen war, d. h. die gleiche Dosis CG erhielt.

Die Analyse des Einflusses von Körpergewicht auf Empfindlichkeit wurde auf zweierlei Weise vorgenommen:

1. Orientierend wurden die summierten Häufigkeiten der Reaktionen in den einzelnen Gewichtsklassen auf signifikante Unterschiede im χ^2-Test geprüft. Dieser Vorgang erscheint berechtigt, da — wie oben ausgeführt — jeweils gleich viel Tiere jeder Gewichtsklasse die gleiche Behandlung erfuhren.

2. Zur näheren Untersuchung eines allfälligen Einflusses des Gewichtes wurden für die einzelnen Gewichtsklassen gesonderte Regressionslinien berechnet. Dies aus zwei Überlegungen:

Erstens sollte untersucht werden, ob die Regressionslinien der einzelnen Gewichtsklassen innerhalb der Fehlergrenze untereinander parallel verlaufen. Dies kann nicht a priori vorausgesetzt werden, da sich ein Einfluß des Gewichtes unter Umständen auf die Reaktion gegenüber verschieden hohen Dosen verschieden auswirken kann.

Es könnte z. B. bei Kröten einer bestimmten Gewichtsklasse ein relativ hoher Prozentsatz auf niedere Dosen CG reagieren, während hohe Dosen noch bei relativ vielen Tieren keine Reaktion auslösen. Dies würde bedeuten, daß die individuellen Schwellendosen innerhalb eines weiten Bereiches schwanken und würde sich in einem flachen Verlauf der Regressionslinie äußern. Oder, im gegenteiligen Fall, die Kröten einer Gewichtsklasse reagieren mit einem relativ kleinen Prozentsatz auf niedere, und mit einem relativ hohen Prozentsatz auf hohe Dosen, woraus sich ein steiler Verlauf der Regressionslinie ergäbe. Dabei könnte die durchschnittliche Empfindlichkeit, d. h. die Dosis, bei der 50% der Tiere reagieren, in beiden Gruppen im Extrem dieselbe sein. Durch die Summierung der Reaktionen innerhalb einer Gewichtsklasse, wie sie für den χ^2-Test durchgeführt wurde, könnte ein derartiger gewichtsbedingter unterschiedlicher Einfluß auf die Streuung der individuellen Schwellendosen im jeweiligen Tierkollektiv verschleiert werden, würde sich aber in einer verschiedenen Neigung der Regressionslinien — als Maß für diese Streuung — zeigen.

Zweitens besteht die Möglichkeit, daß die einzelnen Regressionslinien innerhalb der Gewichtsklassen steiler verlaufen als die gemeinsame, auf Grund einfacher Summierung der Reaktionen innerhalb der einzelnen Dosisgruppen berechnete.

Dies ist sogar zu erwarten, da die Neigung der Regressionslinie umgekehrt proportional der Streuung innerhalb des Tierkollektivs ist, d. h. das b wird um so größer, je einheitlicher das Versuchstiermaterial ist.

Es sollte daher das gemeinsame b_c der Regressionslinien der einzelnen Gewichtsklassen in den jeweiligen Auswertungen verglichen werden mit dem b der früher, auf Grund der summierten Reaktionen in den einzelnen Dosisgruppen, berechneten Regressionslinien, bei denen eine gleichmäßige Aufteilung der einzelnen Gewichtsklassen auf die einzelnen Dosisgruppen erfolgte.

Im folgenden sollen diese Analysen an den eingangs erwähnten Versuchen durchgeführt werden.

Analyse der Versuchsergebnisse vom Herbst 1950.

Es wurde schon erwähnt, daß das im Herbst 1950 verwendete Krötenmaterial beträchtliche Gewichtsunterschiede aufwies und daher in 3 Gewichtsklassen zu je 30 Tieren eingeteilt wurde, die gleichmäßig auf die 5 Dosisgruppen verteilt wurden; je 6 Tiere jeder der 3 Gewichtsklassen erhielten also die gleiche Dosis CG.

Die Reaktionshäufigkeiten in den einzelnen Gewichtsklassen waren:

10—15 g . . . . . 23+, 7—;
15—20 g . . . . . 18+, 12—;
20—25 g . . . . . 20+, 10—.

Der χ^2-Test ergab, daß solche Unterschiede mit einer Wahrscheinlichkeit von $> 30\%$ durch Zufallstreuung erwartet werden können, wenn kein Unterschied zwischen der Reaktionsbereitschaft, d. h. Empfindlichkeit, in den einzelnen Gruppen vorliegt. Es kann daher auf keinen signifikanten Einfluß des Gewichtes in dieser Versuchsreihe geschlossen werden.

Für die Berechnung gesonderter Regressionslinien der drei Gewichtsklassen war innerhalb dieser die Tierzahl pro Dosis mit 6 zu gering.

Analyse der Versuchsergebnisse von Mai 1951.

Die Anlage dieses Versuches und die Resultate in den einzelnen Gruppen sind am besten aus Tab. 6 zu ersehen.

Die Prüfung der Reaktionshäufigkeiten auf signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gewichtsklassen ergab ein $\chi^2_{[2]} = 1{,}701$ ($P > 0{,}30$). Demnach kann, obwohl die Häufigkeit der positiven Reaktionen mit dem Gewicht abnimmt, dieser Unterschied nicht als gesichert angesehen werden.

Als weitere Untersuchung wurden die einzelnen Regressionslinien für jede der drei Gewichtsklassen berechnet. Dabei ergab sich ein gemeinsames $b_c = 8{,}361$ und die Gleichungen

10—15 g: $E = 3{,}032 + 8{,}361\,X$
15—20 g: $E = 2{,}602 + 8{,}361\,X$
20—25 g: $E = 2{,}344 + 8{,}361\,X$.

Die χ^2-Analyse ergab keinen Anhalt für signifikante Abweichungen von einem parallelen Verlauf der Linien: $\chi^2_{[2]} = 0{,}747$ ($P > 0{,}50$).

Die Berechnung der relativen Empfindlichkeit der Gewichtsklassen, bezogen auf die höchste (20—25 g), ergab folgende Werte:

10—15 g: 1,21, *f. l.* ($P = 0{,}05$) 0,97—1,53 (Genauigkeit: 80—126%)
15—20 g: 1,07, *f. l.* ($P = 0{,}05$) 0,86—1,35 (Genauigkeit: 80—126%)

Tabelle 6. *Versuchsergebnisse unter Berücksichtigung des Körpergewichtes der Kröten.*

Gewicht \ Dosis iE.	1,4	2,0	2,8	4,0	Gesamt
		Mai 1951			
10—15 g	2/10	7/10	10/10	—	19/30
15—20 g	1/10	6/10	9/10	—	16/30
20—25 g	1/10	5/10	8/10	—	14/30
		Juni 1951			
10—15 g	7/20	12/20	19/20	—	38/60
15—20 g	1/10	4/10	7/10	—	12/30
		August (1) 1951			
5—10 g	—	4/10	4/10	9/10	17/30
10—15 g	—	1/10	5/10	8/10	14/30
15—20 g	—	4/10	5/10	10/10	19/30
		August (2) 1951			
5—10 g	—	5/10	6/10	9/10	20/30
10—15 g	—	3/10	7/10	9/10	19/30
15—20 g	—	1/10	4/10	9/10	14/30

Die Brüche bedeuten: Anzahl der reagierenden Tiere zur Gesamtzahl der Tiere in der Gruppe.

Es wurde demnach eine höhere Empfindlichkeit mit abnehmendem Gewicht gefunden, doch sind diese Unterschiede statistisch nicht gesichert. Schließlich sei noch die Gleichung der vereinigten Regressionslinie der drei Gewichtsklassen mit der früher berechneten verglichen:

$$E = 2{,}654 + 8{,}361\,X$$

gegenüber $E = 2{,}806 + 7{,}822\,X$ (vgl. S. 493).

Es zeigt sich also tatsächlich die theoretisch zu erwartende Zunahme des b, wenn bei der Berechnung der Regressionslinie das Gewicht berücksichtigt wird. Diese Zunahme ist jedoch nicht signifikant: $\chi^2_{[1]}$ (für Abweichungen von Parallelität) = 0.108 ($P > 0{,}70$).

Analyse der Versuchsergebnisse von Juni 1951.

Aus früher besprochenen Erwägungen (siehe S. 497) erscheint es berechtigt, den zweimaligen Versuch an je 45 Kröten auch für gegenwärtige Analyse als einen Versuch mit 90 Tieren zu behandeln.

Die Kröten dieser Versuchsreihe waren in bezug auf ihr Gewicht einheitlicher als im Mai, so zwar, daß sie in nur zwei Gewichtsklassen — < 15 g und > 15 g — eingeteilt wurden, wobei doppelt soviel leichte wie schwere Kröten zur Verfügung standen. Es wurde daher jede der 3 Dosen je 20 Tieren mit einem Gewicht < 15 g und je 10 Tieren mit einem Gewicht > 15 g verabreicht (vgl. Tab. 6).

Der χ^2-Test ergab, daß der Unterschied zwischen den Reaktionshäufigkeiten bei leichten und schweren Kröten mit einer Wahrscheinlichkeit von eben mehr als 95% als gesichert, d. h. nicht durch Zufall bedingt, anzusehen ist.

Die Berechnung der gesonderten Regressionslinien für die beiden Gewichtsklassen führte zu folgenden Gleichungen mit der gemeinsamen Neigung $b_c = 6{,}143$

$$< 15\text{ g}: E = 3{,}602 + 6{,}143\,X$$
$$> 15\text{ g}: E = 2{,}820 + 6{,}143\,X.$$

Die Analyse des gesamten $\chi^2_{[3]} = 0{,}970$ ergab nur einen insignifikant kleinen Anteil für Abweichungen von Parallelität: $\chi^2_{[1]} = 0{,}017$ ($P > 0{,}80$); die beiden Regressionslinien können daher als parallel verlaufend betrachtet werden.

Die Berechnung der relativen Empfindlichkeit für die leichten Kröten bezogen auf die schweren ergab einen Wert von 1,34, *f. l.* ($P = 0{,}05$) 1,06—1,83. Da die Mutungsgrenzen 1 nicht einschließen, erscheint die höhere Empfindlichkeit der leichteren Kröten — für die 95%-Wahrscheinlichkeitsstufe — gesichert.

Schließlich wurden die Regressionslinien der beiden Gewichtsklassen zu einer gemeinsamen Linie vereinigt und diese hinsichtlich Neigung mit der früher erhaltenen (siehe S. 493) verglichen. Die entsprechenden Gleichungen lauten: Vereinigte Regressionslinie bei Berücksichtigung des Gewichtes:

$$E = 3{,}337 + 6{,}143\,X;$$

Regressionslinie durch Summierung der Reaktionen in den Dosisgruppen:

$$E = 3{,}477 + 5{,}655\,X.$$

Es zeigte sich also auch hier, wie bei den Maibefunden, ein steilerer Verlauf der Regressionslinie, wenn diese auf Grund der Resultate an Kröten eines enger begrenzten Gewichtsbereiches berechnet wurden. Doch auch hier ergab der χ^2-Test, daß die Unterschiede des b nicht signifikant sind ($P > 0{,}70$).

Analyse der Versuchsergebnisse von August 1951.

Die Versuchsergebnisse sind aus Tab. 6 zu ersehen.

Es wurden insgesamt 6 Regressionslinien — 2 Auswertungen mit je 3 Gewichtsklassen — berechnet und in bezug auf Neigung und Position verglichen.

Die Analyse des χ^2 ergab ein $\chi^2_{[5]} = 2{,}502$ ($P > 0{,}70$) für Abweichungen von Parallelität, womit die Annahme einer gemeinsamen Neigung berechtigt erscheint. Es konnten also die relativen Empfindlichkeiten in den einzelnen Gewichtsklassen in üblicher Art verglichen werden. Dabei erwiesen sich die Kröten der Gewichtsklasse 1 (5—10 g) der 2. Auswertung am empfindlichsten, die Kröten der Gewichtsklasse 2 (10—15 g) der 1. Auswertung und die der Gewichtsklasse 3 (15—20 g) der 2. Auswertung am unempfindlichsten. Im einzelnen ergab sich folgende Reihenfolge (Zahlen = Gewichtsklasse, Indices = Auswertung):

$$1_2 > 3_1 > 2_2 > 1_1 > 3_2 = 2_1$$

Die relativen Empfindlichkeiten bezogen auf die höchste ($1_2 = 1{,}00$) betrugen:

$$1_1 = 0{,}89,\ 2_1 = 0{,}78,\ 3_1 = 0{,}97,\ 2_2 = 0{,}96,\ 3_2 = 0{,}78.$$

Die Prüfung auf Signifikanz dieser Unterschiede ergab, daß in keinem Fall die Empfindlichkeitsänderung außerhalb der zu erwartende Zufallsstreuung fiel; es konnte also keine Empfindlichkeitsabnahme mit zunehmendem Gewicht der Versuchstiere mit Sicherheit festgestellt werden.

Abschließend wurde die gemeinsame Neigung der Regressionslinien für die einzelnen Gewichtsklassen in den zwei Augustauswertungen verglichen mit der gemeinsamen Neigung der Regressionslinien der beiden Augustauswertungen, berechnet auf Grund der summierten Reaktionen innerhalb der Dosisgruppen. Dabei ergab sich — wie bei den früheren Untersuchungen — ein höheres b, wenn das Gewicht der Versuchstiere berücksichtigt wurde:

$$b = 6{,}012 \quad \text{gegenüber} \quad b = 5{,}770,$$

wobei dieser Unterschied jedoch wieder nicht signifikant ist.

Zusammenfassende Prüfungen des Einflusses von Körpergewicht auf b und ED 50[1].

Die bisher mitgeteilten Untersuchungen über den Einfluß des Körpergewichtes der Kröten auf den Verlauf der Regressionslinien hinsichtlich Neigung und Position derselben führten zu keinem einheitlichen bzw. statistisch gesicherten Ergebnis. Es sollten daher zusammenfassend alle bisher besprochenen Befunde des Jahres 1591 dahingehend untersucht werden, ob signifikante Unterschiede bestünden, je nachdem es sich um Kröten < 15 g oder um solche mit einem Gewicht > 15 g handelte, bzw. ob diese Einengung des Gewichtsbereiches die Neigung der Regressionslinien *signifikant* beeinflußt.

Zunächst wurden die Neigungen der Regressionslinien für die leichten (< 15 g) und schweren (> 15 g) Kröten innerhalb der Mai-, Juni-, August(1)- und August(2)-Auswertungen auf signifikante Unterschiede im t-Test (Nullhypothese) geprüft. Dabei ergab sich ein $t_{[3]} = 0{,}272$ ($P > 0{,}80$), d. h. die Unterschiede der Neigungen innerhalb der einzelnen Auswertungen können mit einer Wahrscheinlichkeit von über 80% als durch Zufall bedingt angesehen werden. Demgegenüber ergab die Prüfung der Unterschiede der Neigungen innerhalb der eben erwähnten Auswertungen, wenn einerseits das Gewicht berücksichtigt wurde, andererseits die Reaktionshäufigkeiten in den einzelnen Dosisgruppen ohne Rücksicht auf das Gewicht der Kröten summiert wurden, ein $t_{[3]} = 4{,}762$ ($P < 0{,}02$). Demnach kann eine Zunahme des b, wie sie in den Untersuchungen bei Beschränkung des Gewichtes der Versuchstiere auf ein solches von entweder < 15 g oder > 15 g angetroffen wurde, nur in weniger als 2 von 100 Fällen zufallsbedingt erwartet werden und ist daher als signifikant zu betrachten.

Für die Untersuchungen des Einflusses des Körpergewichtes der Kröten auf die ED 50, d. h. auf die Empfindlichkeit gegenüber CG, wurden wieder sämtliche Befunde des Jahres 1951 herangezogen. Die varianzanalytische Prüfung ergab ein signifikantes F nur in bezug auf Jahreszeit ($P < 0{,}01$). Für Gewicht betrug das F ($n_1 = 1$, $n_2 = 3$) 8,67, entsprechend einem $P = 0{,}05$—$0{,}10$. Es konnte also auch bei Berücksichtigung aller dafür in Frage kommenden Versuche ein Einfluß des Gewichtes im Sinne einer Empfindlichkeitserhöhung mit abnehmendem Körpergewicht der Versuchstiere statistisch nicht gesichert werden. Ebenso ergab sich die Wechselwirkung zwischen Jahreszeit und Gewicht als insignifikant ($P = 0{,}10$—$0{,}20$). Daraus kann gefolgert werden, daß der Einfluß des Gewichtes auf die Empfindlichkeit jahreszeitlich unabhängig ist, bzw. daß die jahreszeitlich bedingten Schwankungen der

[1] Die hierbei verwendeten statistischen Prüfverfahren (t-Test, F-Test, Varianzanalyse) sind allgemein bekannte Standardmethoden und wurden daher nicht in dem Abschnitt über „Statistische Behandlung der Versuchsergebnisse" besprochen.

Empfindlichkeit unabhängig vom Gewicht der Kröten sind, d. h. daß sie sich sowohl bei leichten wie bei schweren Tieren im gleichen Sinne auswirken.

Diskussion.

Die Untersuchungen hatten ergeben, daß bei den Kröten ausgeprägte jahreszeitliche Schwankungen der Empfindlichkeit gegenüber CG vorlagen: Diese war am höchsten im Frühjahr, nahm im Sommer ab und war am niedrigsten im Herbst, und zwar etwa die Hälfte der Frühjahrsempfindlichkeit.

Dieser Befund steht in Widerspruch zu den Ergebnissen von Lajos et al. (1951), Bedoya und Plaza (1950) und Edam (1950) an Fröschen; die genannten Autoren konnten an *Rana esculenta* keinen Einfluß der Jahreszeit auf die Empfindlichkeit gegenüber CG feststellen bzw. stellten Froscheinheiten für CG ohne Berücksichtigung der Jahreszeit auf. Samson (1950) hingegen fand an *R. pipiens* jahreszeitliche Unterschiede, mit der niedersten Empfindlichkeit im Sommer. Die vorliegenden Ergebnisse stehen im Einklang mit denen von Thorborg und Hansen (1951), die in ausgedehnten Untersuchungen an *Bufo bufo* eine deutliche jahreszeitliche Abhängigkeit der Empfindlichkeit gegenüber CG festgestellt hatten, und zwar mit einem Maximum im Frühjahr und einem Minimum im Spätsommer und Frühherbst. Auch die experimentell-histologischen Untersuchungen von Zander (1951) über das periodische Verhalten der Spermiogenese bei Erdkröten deuten auf jahreszeitliche Unterschiede in der Reaktion dieser Tiere gegenüber CG.

Es wurde der Einwand erhoben (Iselstöger, 1951), daß, wenn auch frisch gefangene Kröten jahreszeitliche Schwankungen ihrer Empfindlichkeit aufweisen, dies nicht für solche gilt, die dauernd unter gleichen (Laboratoriums-) Bedingungen gehalten werden. Dagegen sprechen die Befunde von Thorborg und Hansen (1951), deren gesamtes Krötenmaterial im Frühjahr gefangen wurde; trotzdem fanden sie bei diesen, unter gleichbleibenden Bedingungen gehaltenen Kröten, einen Abfall der Empfindlichkeit im Frühherbst auf ca. $^1/_3$ der Frühjahrsempfindlichkeit. In diesem Sinne sprechen auch die vorliegenden Ergebnisse der Untersuchungen im Oktober 1951. Es wurde schon darauf hingewiesen, daß es sich bei den hierzu verwendeten Kröten nicht — wie in allen übrigen Fällen — um frisch gefangene Tiere handelte, sondern daß 90 von 180 im August desselben Jahres gefangenen und ausgewerteten Kröten streng zufallsmäßig ausgewählt worden waren. Dennoch kam es zu einem statistisch hoch gesicherten ($P < 0{,}001$) Absinken der Empfindlichkeit auf etwa $^2/_3$ der im August festgestellten, was einer Abnahme um ca. die Hälfte der im Frühjahr jenes Jahres gefundenen Empfindlichkeit gleichkommt, ein Befund, der schon im Jahr vorher (1950) an frisch gefangenen Tieren erhoben worden war. Der Einwand, daß dieser Empfindlichkeitsabfall nicht jahreszeitlich bedingt sei, sondern darauf beruhe, daß die Kröten schon einmal (im August) verwendet worden waren, erscheint durch die Versuche im Juni 1951 entkräftet: In diesen wurden die gleichen Kröten zweimal im Abstand von einer Woche getestet und es ergab sich keine signifikante Änderung der Empfindlichkeit (relative Empfindlichkeit im zweiten Test gegenüber dem ersten: 1,05).

Diesen jahreszeitlichen Schwankungen standen nur geringfügige Tag-zu-Tag-Schwankungen gegenüber: Innerhalb kürzerer Zeitabstände — 1 Tag bis 5 Wochen — wurden keine statistisch gesicherten Empfindlichkeitsänderungen gefunden. Damit konnte ein früherer Befund (Wohlzogen und Halama, 1951a) bestätigt werden.

Die Untersuchungen über den Einfluß des Körpergewichtes auf die Empfindlichkeit der Kröten gegenüber CG wiesen darauf hin, daß es mit zunehmendem Gewicht zu einer Empfindlichkeitsabnahme kommt, die jedoch so geringfügig ist, daß sie nur in einem Fall der vorliegenden Untersuchungen statistisch gesichert werden konnte: Im Juni betrug die relative Empfindlichkeit der Kröten < 15 g das $1^1/_3$fache der von Kröten > 15 g; die höhere Empfindlichkeit der leichteren Kröten ist für die 95%-Wahrscheinlichkeitsstufe eben noch gesichert.

Aus dem Vergleich der Reaktionen innerhalb verschiedener Gewichtsklassen durch gesonderte Regressionslinien ging hervor, daß die Empfindlichkeitsabnahme — mit zunehmendem Gewicht der Versuchstiere — alle untersuchten Dosisstufen gleichmäßig betraf: Die Neigung der Regressionslinien blieb innerhalb der Fehlergrenze gleich, ob es sich um leichte oder schwere Tiere handelte, d. h. die Relation zwischen Dosis und Wirkung wurde nur quantitativ, nicht aber qualitativ verändert.

Schließlich wurden noch die Neigungen von Regressionslinien aus Versuchen an Tieren mit großen Gewichtsunterschieden verglichen mit solchen, bei denen das Gewicht der Versuchstiere innerhalb enger Grenzen (5 g) gehalten worden war. Dabei zeigte sich, daß in allen Fällen die Steilheit der Linie mit Einschränkung des Gewichtsbereiches zunahm. Diese Zunahme des b war im *Einzelfall* nicht signifikant, erwies sich aber bei Berücksichtigung *aller* Versuche als statistisch gesichert ($P < 0{,}02$). Daß das b als Maß für die Homogenität des Versuchstierkollektivs auch durch erhöhte Einheitlichkeit des Gewichtes der Tiere größer würde, war zu erwarten. Die Bedeutung dieses Befundes liegt vor allem darin, daß bei Auswertungen mit Regressionslinien (in Form der *parallel line assays*, d. h. Auswertung mittels parallel verlaufender Regressionslinien) die Genauigkeit der Bestimmung direkt proportional b ist. Um die Präzision zu erhöhen, wird man immer trachten, möglichst steile Regressionslinien zu erhalten. Einer der Faktoren, der hierzu beiträgt, ist nach obigen Befunden auch ein möglichst einheitliches Körpergewicht der Kröten.

Welche Genauigkeit in CG-Auswertungen mit männlichen Wechselkröten als Testtier erwartet werden können, zeigen die Vergleiche von Untersuchungen mit verschieden großen Tierzahlen. In der vorliegenden Arbeit wurden folgende durchschnittliche Genauigkeiten der Bestimmung der relativen Wirksamkeit in Abhängigkeit von der Tierzahl gefunden:

Mit 30 Tieren pro Versuch 77—129%;
mit 60 Tieren pro Versuch 81—122%;
mit 90 Tieren pro Versuch 86—117%;
mit 180 Tieren pro Versuch 90—111%.

Zum Vergleich seien die von EMMENS (1950) zitierten Tierzahlen für Genauigkeitsgrenzen von 80%—125% ($P = 0{,}05$) angeführt. CG-Bestimmung mit Ratten mittels der Ovargewichtsmethode (B. P., 1948): 45 Tiere; CG-Bestimmung mit Mäusen mittels der Vaginalabstrichmethode (EMMENS, 1939): ca. 44 Tiere. Daraus ist ersichtlich, daß ungefähr mit der gleichen Tierzahl an Kröten eine ähnliche Genauigkeit wie mit den oben angeführten Nagermethoden zu erwarten ist. Wenn man bedenkt, daß, abgesehen von den unvergleichlich niedereren Kosten der Kröten gegenüber Nagern, die Haltung der ersteren wesentlich geringere Anforderungen finanziell sowohl wie räumlich und zeitlich stellt, erscheint eine Auswertungsmethode von CG mit Kröten als Versuchstieren nicht unwesentliche Vorteile gegenüber den bisher üblichen Methoden mit Nagern zu bieten. Dazu kommt noch, daß keine dieser Methoden in einer ähnlich kurzen Zeit eine Bestimmung von CG zuläßt, wie die Methode mit männlichen Kröten: ungefähr 4 Std Versuchsdauer.

Es sollen abschließend die sich aus den vorliegenden Untersuchungen ergebenden Folgerungen für die Durchführung befriedigender CG-Bestimmungen mit männlichen Kröten als Testtieren zusammengefaßt werden.

1. Im Hinblick auf die ausgeprägten jahreszeitlichen Schwankungen der Empfindlichkeit männlicher Kröten gegenüber CG erscheint es unbedingt erforderlich, die Auswertungen in Form von „*parallel line assays*" mit dem internationalen Standard als Vergleichssubstanz durchzuführen. Sollen mehrere Bestimmungen innerhalb kürzerer Zeit (bis maximal 1 Monat) durchgeführt werden, so ist es in Anbetracht der geringfügigen bisher gefundenen Tag-zu-Tag-Schwankungen nicht absolut erforderlich, in jeder Auswertung eine Versuchsreihe mit internationalem Standard anzusetzen. Jedoch erscheint eine Überprüfung der Empfindlichkeit der Versuchstiere von Monat zu Monat, besser innerhalb kürzerer Abstände, als unerläßlich.

2. Die für eine bestimmte Genauigkeit erforderliche Tierzahl kann aus der Zusammenstellung auf S. 504 ersehen werden. Für die üblicherweise geforderte Genauigkeit von 80—125% bei $P = 0{,}05$ wird ein Ansatz von 40—50 Tieren pro Substanz ausreichend sein.

3. Die Genauigkeit einer Auswertung mittels der Probit-Regressionslinien-Methode ist direkt proportional dem b. Dieses wiederum ist ein Maß für die Streuung, und zwar ist es umgekehrt proportional der Streuung im Tierkollektiv. Je einheitlicher dieses ist, desto größer wird b und damit der Verlauf der Regressionslinie steiler sein. Alle vorliegenden Untersuchungen wurden, wie schon früher erwähnt, an einem möglichst einheitlichen Tiermaterial hinsichtlich Herkunft und Fangzeit durchgeführt. Die angegebenen Werte für b können daher nicht verallgemeinert werden. Die Untersuchungen hinsichtlich Einfluß des Körpergewichtes der Versuchstiere auf die jeweiligen Neigungen der Regressionslinien haben ergeben, daß das b mit Einschränkung des Gewichtsbereiches zunimmt. Es ist daher zu erwarten, daß eine Bestimmung um so genauer wird, je einheitlicher das Gewicht der hierzu verwendeten Kröten ist.

Zusammenfassung.

Der Einfluß verschiedener Faktoren auf die Reaktion männlicher *Bufo viridis* gegenüber CG (Spermiation) wurde untersucht. Dabei ergab sich:

1. Die Relation zwischen dem Logarithmus der Dosis von CG und dem Wirkungsprozentsatz in Probits ist eine lineare. Die Neigung der Regressionslinien zeigte während der ganzen Versuchsperiode (2 Jahre) keine signifikanten Unterschiede.

2. Es bestehen ausgeprägte jahreszeitliche Schwankungen der Empfindlichkeit gegenüber CG, und zwar fällt die Empfindlichkeit im Herbst auf ca. die Hälfte der des Frühjahrs ab.

3. Die Empfindlichkeitsschwankungen innerhalb kürzerer Zeitabstände (bis zu 5 Wochen) sind geringfügig und erwiesen sich bei statistischer Prüfung als insignifikant.

4. Ein Einfluß des Gewichtes der Versuchstiere auf die Empfindlichkeit konnte statistisch nicht gesichert werden, doch führte in allen Fällen eine Einengung des Gewichtsbereiches der verwendeten Kröten zu einer Zunahme der Steilheit der Regressionslinien.

5. Vergleiche zwischen den einzelnen Auswertungen ergaben, daß mit 40—50 Tieren pro Auswertung eine Genauigkeit der Bestimmung der relativen Wirksamkeit von 80—125% ($P = 0{,}05$) erwartet werden kann, wenn ein in bezug auf Herkunft und Haltung möglichst einheitliches Tiermaterial verwendet wird.

Nach den vorliegenden Untersuchungen erscheinen männliche Wechselkröten als ein geeignetes Versuchstier für quantitative CG-Bestimmungen und es wurden Vorschläge für die Durchführung solcher Auswertungen gemacht. Auf die Möglichkeit, diese Methode zu einer Standard-CG-Bestimmungsmethode zu verwenden, wurde hingewiesen.

Mein Dank gebührt in erster Linie Herrn Prof. Dr. G. Schubert für das wohlwollende Interesse und die großzügige Förderung, die er meiner Arbeit angedeihen ließ; Frl. Elisabeth Bukovics für Hilfe beim Fang und bei der Haltung der Kröten, sowie während der Versuche und bei den Ausrechnungen; Herrn Oberamtmann J. Pfneisl für sein verständnisvolles Entgegenkommen beim Fang der Kröten in und um Illmitz und, last not least, meinem Vater, ohne dessen aktive und finanzielle Hilfe beim Fang der Versuchstiere ich diese Arbeit nicht hätte durchführen können.

Zeichenerklärung.

b Regressionskoeffizient (= Neigung der Dosis-Wirkungslinie).

b_c gemeinsame Neigung mehrerer Dosis-Wirkungslinien.

χ^2 Verhältnis einer beobachteten Summe von Quadraten zu der entsprechenden Varianz, die durch Hypothese festgelegt ist. $\chi^2_{[a]}$ bedeutet „χ^2 mit a Freiheitsgraden".

E Erwartungswert von Y, gemäß der allgemeinen Formel für die Regressionsgerade $E = a + bX$ $(a = \overline{Y} - b\overline{X})$.

F Verhältnis von zwei mittleren Quadraten.

k Anzahl der Dosisgruppen in einem Versuch.

M Logarithmus der relativen Wirksamkeit, bzw. Empfindlichkeit.

N Anzahl der Auswertungen bei Vergleichen zwischen mehreren Auswertungen.

n Zahl der Versuchstiere in einer Gruppe.

n_1, n_2 Freiheitsgrade für zwei mittlere Quadrate im F-Test.

S bedeutet „Summe von . . .", z. B. $Snwx^2$ = Summe aller Werte von $(n \times w \times x^2)$.

Σ bedeutet „Summe der Summen von . . .".

t *normal deviate* für eine bestimmte Wahrscheinlichkeitsstufe, entsprechend einem t („*Student*") mit ∞ Freiheitsgraden; z. B. für $P = 0{,}05$: $t = 1{,}96$.

$t_{[a]}$ „*Student's*" t mit a Freiheitsgraden.

$V \ldots$ Varianz von . . .; z. B. Vb = Varianz von $b \left(= \frac{1}{Snwx^2}\right)$.

w *Probit weighting coefficient.*

X Logarithmus der Dosis, die ein Tier erhält.

$\overline{X}$ gewichtetes Mittel aller log-Dosen.

$\overline{\overline{X}}$ gewichtetes Mittel aller log-Dosen bei Vereinigung von Auswertungen.

x Abweichungen der X von $\overline{X}$.

Y Probit des Wirkungsprozentsatzes einer Versuchstiergruppe.

$\overline{Y}, \overline{\overline{Y}}$ gewichtete Mittel, analog $\overline{X}$, $\overline{\overline{X}}$.

y Abweichungen der Y von $\overline{Y}$.

Literatur.

Bedoya, J. M., u. F. Plaza: Geburtsh. u. Frauenhk. **10**, 509 (1950). — Bliss, C. I.: Ann. Appl. Biol. **22**, 307 (1935); zit. nach Fisher and Yates, 1948. — British Pharmacopoeia. London: Constable and Co. Ltd. 1948. — Edam, K.: Geburtsh. u. Frauenhk. **10**, 513 (1950). — Emmens, C. W.: Bull. Health Org. League of Nations **8**, 862 (1939). — Hormone Assay. New York: Academic Press Inc. 1950. — Finney, D. J.: Probit Analysis. Cambridge University Press. 1952. — Fisher, R. A., and F. Yates: Statistical Tables. London: Oliver and Boyd 1948. — Frazer, J. F. D.: Brit. J. Herpetol. **1**, 84 (1950). — Frazer, J. F. D., and F. X. Wohlzogen: J. of Physiol. **113**, 322 (1951). — Galli Mainini, C.: Semana Méd. **54**, 337 (1947). — Hinglais, H., et M. Hinglais: C. r. Soc. Biol. Paris **143**, 324 (1949). — Houssay, B. A.: Rev. Soc. Argent. Biol. **23**, 114 (1947). — Iselstöger: Vortrag, gehalten am 12. Juni 1951 vor der Geburtsh.-Gynäkolog. Gesellschaft Wien. 1951. — Lajos, L., K. Pali u. L. Lummerländer: Schweiz. med. Wschr. **81**, 815 (1951). — van Oordt, G. J., u. H. Klomp: Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch. **49**, 565 (1946). — Perry, W. L. M.: Spec. Rep. Ser. Med. Res. Coun., Lond., No. 270. London: H. M. Stationery Office 1950. — Samson, M.: Science (Lancaster, Pa.) **111**, 231 (1950). — Thorborg, J. V.: Acta endocrinol. **4**, 16 (1950a); **4**, 163 (1950b). — Thorborg, J. V., u. K. Hansen: Acta endocrinol. **6**, 51 (1951). — Wohlzogen, F. X., u. A. Halama: Experientia **7**, 221 (1951a). — Naturwiss. **38**, 382 (1951b). — Zander, J.: Geburtsh. u. Frauenhk. **11**, 610 (1951).

Dr. F. X. Wohlzogen, Physiologisches Institut der Universität Wien.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 508—538 (1953).

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Köln und der Medizinischen Klinik der Städtischen Krankenanstalt Köln-Merheim (Direktor: Prof. Dr. H. Schulten).

Das Verhalten des Ferri-Saccharates im Organismus und seine therapeutische Bedeutung.

Von

Walther Pribilla.

(Eingegangen am 23. September 1952.)

Auf dem Gebiet des normalen und pathologischen Eisenstoffwechsels sind unsere Kenntnisse durch die in den letzten Jahren erschienenen Arbeiten von Heilmeyer und Mitarb., Hahn und Mitarb., Granick u.a. außerordentlich vermehrt worden. Aber nicht nur theoretische Fortschritte sind erzielt worden, sondern die praktische Eisentherapie ist durch die Einführung dreiwertiger, intravenös anwendbarer Präparate bereichert worden. Der Wert dieser Therapie ist inzwischen unzweifelhaft und in der ganzen Welt bestätigt worden. Nun sind aber mit dieser neuen Therapie, die unter Durchbrechung der so außerordentlich sorgfältigen Eisenstoffwechselregulation in völlig unphysiologischer Weise die Zufuhr großer — man möchte sagen beliebig großer — Eisenmengen erlaubt, eine Reihe von Problemen aufgetaucht, die bisher völlig unbekannt waren und die inzwischen zum Teil schon eine Bearbeitung erfahren haben. Die erste Frage betrifft natürlich die möglicherweise vorhandene schädigende Wirkung großer Eisendosen. Diese Frage ist genau so wichtig wie die nach der therapeutischen Wirksamkeit. Dabei muß auch der Zeitfaktor mit berücksichtigt werden, da ja mit einer wesentlichen Ausscheidung des Eisens nicht zu rechnen ist und das zugeführte Eisen also bis zum Lebensende im Körper bleiben wird. Die zweite Frage lautet, in welcher Form übermäßig zugeführtes Eisen im Körper gespeichert wird und ob es als Depot jederzeit, wenn später ein Eisenmangel eintritt, zur Verfügung steht, also ob das in größeren Mengen injizierte Eisen später mobilisierbar ist. Eine weitere Frage ist die nach der Beziehung zwischen artefizieller Eisenspeicherung im Organismus und der Hämochromatose. Wir haben versucht, mit Hilfe von Tierexperimenten zu diesen Problemen Stellung zu nehmen.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen. Die Versuche gliederten sich in drei Gruppen.

1. Es wurde bei Normaltieren der Eisengehalt von Leber, Milz und Niere quantitativ chemisch bestimmt und histologisch der Eisengehalt zahlreicher Organe kontrolliert. Außerdem wurde die makroskopische Berliner Blaureaktion (s. u.) an verschiedenen Organen durchgeführt.

Zwei unbehandelte Tiere wurden unter Kontrolle des Blutbildes durch laufende Aderlässe anämisiert und dann bei ihnen die gleichen Untersuchungen ausgeführt. Diese Versuche sollten Auskunft geben über die Regenerationsfähigkeit des Knochenmarkes und seine Reaktion auf die Aderlässe, über die Verträglichkeit der Blutentnahme und über eine evtl. Änderung des Eisengehaltes der Organe.

2. Vier Kaninchen erhielten verschieden große Eisenmengen intravenös zugeführt, um die Verträglichkeit des Präparates und evtl. eintretende toxische Schädigungen oder Organveränderungen zu erkennen.

3. Sechs Tiere erhielten relativ die gleiche Eisendosis intravenös. Bei drei Tieren wurden dann derart laufende Blutentnahmen durchgeführt, daß der Eisengehalt der entzogenen Blutmenge in einem bestimmten Verhältnis zur gegebenen Eisendosis stand. Drei Tiere dienten als Kontrolle. Nach verschieden langen Zeitabschnitten wurde je ein Eisenaderlaßtier und eine Kontrolle, die also nur Eisen erhalten hatte, untersucht. Auf diese Weise sollte die Verwertbarkeit des injizierten Eisens geprüft werden.

a) Methodik.

1. Die Tiere wurden in Einzelkäfigen gehalten. Das Körpergewicht und das Allgemeinverhalten wurden laufend kontrolliert. Das Futter bestand aus Heu, Rüben, Hafer und Brot. Es war also nicht eisenfrei.

2. Bei allen Tieren wurden laufend die Erythrocyten und die Retikulocyten gezählt und das Hämoglobin bestimmt. Um einen Fehler durch ungleichmäßige Pipetten zu vermeiden, wurden nur je zwei gut übereinstimmende Erythrocyten- und Hämoglobinpipetten benutzt und alle Untersuchungen von einer Person ausgeführt. Die Hämoglobinbestimmungen wurden in der üblichen Weise mit einem Sahli-Hämometer ausgeführt. Das Blut wurde aus der Ohrrandvene nach Einstich mit der Spitze eines Skalpels entnommen.

3. Zur Blutentnahme wurde durch Anfeuchten mit Äther an einem Ohr des Kaninchens, das von einer Hilfsperson gehalten wurde, eine Hyperämie erzeugt und dann mit einem spitzen Skalpel ein kleiner Schnitt in die Ohrrandvene gemacht. Das Blut floß dann, besonders wenn die Vene durch leichte Kompression an der Ohrwurzel gestaut wurde, in schneller Tropfenfolge aus der Wunde ab und wurde in einem Meßzylinder aufgefangen. Hörte der Blutstrom infolge Gerinnung auf, dann genügte es meist, durch Reiben mit einem Äthertupfer den Blutschorf von der Schnittstelle zu entfernen. Mit einiger Übung gelingt es leicht, auf diese Weise dem Tier eine beliebige Blutmenge abzunehmen. 50—60 cm^3 Blut konnten im allgemeinen in etwa 10—15 min gewonnen werden. Die Schnittwunde heilte unter einem Heftpflasterverband innerhalb von wenigen Tagen, so daß die Vene wieder benutzt werden konnte.

4. Die Tötung der Tiere erfolgte durch „Viviperfusion“ wie sie von Whipple angegeben wurde. In Urethan-Narkose (1,3 g/kg subcutan) wurden die Tiere in Rückenlage auf ein Operationsbrett aufgespannt und durch einen von Sternum bis zum Unterkiefer reichenden Hautschnitt die großen Halsgefäße freigelegt. In die Vena jugularis der einen Seite lief als Spülflüssigkeit körperwarme physiologische Kochsalzlösung, während die Arteria carotis der anderen Seite angeschnitten

wurde. Bis zum Herzstillstand wurde im allgemeinen etwa 1 Liter Kochsalzlösung, also ein Mehrfaches der Blutmenge verbraucht. Mit den letzten Herzkontraktionen strömte eine kaum noch rötlich gefärbte Flüssigkeit aus der Arterie. Der schon makroskopisch leicht erkennbare Verdünnungsgrad des Blutes konnte durch Vergleich der Hämatokritwerte vor und nach der Viviperfusion auch objektiv belegt werden. Nach dem Herzstillstand wurde eine Kanüle in die Aorta thoracis eingebunden und nach Abklemmen der Aorta abdominalis die Durchspülung mit etwas größerem Druck fortgesetzt. Im allgemeinen wurden insgesamt 3,5 Liter physiologische Kochsalzlösung verbraucht. Diese Methode wurde gewählt, um für die Eisenbestimmung möglichst blutfreie Organe zu erhalten. Die blasse Organfarbe der durch Viviperfusion getöteten Tiere war sehr eindrucksvoll. Die Nieren waren schwach grau gefärbt, die Leber lehmartig, die Milz schwach gerötet und die Lungen waren fast weiß mit leicht gelblicher Tönung.

5. Das für alle klinischen und tierexperimentellen Versuche verwandte Eisenpräparat war nach Angaben der Herstellerfirma ein standardisierter Ferri-Saccharat-Komplex in stabil-kolloidaler Form. 5 cm^3 der Lösung enthielten 100 mg elementares Eisen. Von der Richtigkeit dieser Angaben konnten wir uns durch chemische Untersuchung mehrmals überzeugen.

6. Histologisch wurden bei den meisten Tieren folgende Organe untersucht: Milz, Leber, Niere, Knochenmark, Lunge, Nebenniere, Gehirn, Herz, Magen, Dünn- und Dickdarm, Muskulatur. Das Knochenmark wurde immer aus dem caudalen Drittel des Femur entnommen. Um bei der Fixierung einen Eisenverlust (Huecк) zu vermeiden, wurde nur neutrales Formalin angewandt und auf eine schnelle weitere Verarbeitung geachtet. Die Organstücke wurden in Paraffin, das auch für eisenhaltiges Material unbedenklich ist (Romeis), eingebettet. 6—9 μ dicke Schnitte wurden mit Hämalaun-Eosin in der üblichen Weise gefärbt. Zum Eisennachweis dienten die Berliner-Blau-Reaktion und die Turnbull-Blau-Reaktion. Die Gegenfärbung erfolgte mit Kernechtrot. Der Ausfall der Reaktion wurde folgendermaßen beurteilt: negativ, schwach positiv, positiv, mittelstark, stark, sehr stark.

7. Die makroskopische Berlinerblaureaktion wurde nach der Vorschrift von Rothlin und Undritz durchgeführt. Dabei werden 3—4 mm dicke, sofort nach dem Tode des Tieres mit eisenfreien (vernickelten) Instrumenten hergestellte Organscheiben in frische, 2%ige, mit Aqua bidest. hergestellte Ferrocyankalium-Lösung für ½ Std eingelegt. Anschließend werden die Organteile mit Glasinstrumenten (z. B. Objektträger) in 1%ige Salzsäure übertragen. Darin bleiben sie unter mehrmaligem Wechsel der Salzsäure etwa 12—24 Std. Die Reaktion ist dann abgeschlossen und die Organe können, ohne daß die Blaufärbung verloren geht, in Formol aufbewahrt werden. Kann das in 4—6 Monaten eintretende Bleichen der Organeigenfarbe nicht abgewartet werden, so können die Organe durch Einlegen in 1%ige Wasserstoffsuperoxyd-Lösung (24—48 Std) gebleicht werden. Doch vertrugen bei unseren Versuchen die Leberstücke einen längeren Aufenthalt (über 12 Std) im Wasserstoffsuperoxyd schlecht. Erfaßt wird mit der Reaktion das Nichthämoglobineisen. von Bidder und Undritz haben für die Ratte nachgewiesen, daß der Ausfall der makroskopischen Berliner-Blau-Reaktion mit dem chemisch bestimmten Eisengehalt der Leber gut übereinstimmt. Doch handelt es sich selbstverständlich nicht um eine quantitativ auswertbare Methode. Je nach der Farbintensität unterscheidet man folgenden Ausfall: sehr stark, stark, mittelstark, schwach positiv und negativ. Es darf hier daran erinnert werden, daß schon Tartakowski 1903 eine Methode zum Nachweis des Eisens in Organstücken angegeben hat. Auch Spatz zeigte 1922, daß mit Schwefelammonium in unfixiertem Gewebe Hämosiderin nachgewiesen werden kann, was z. B. zur Schnelldiagnose der progressiven Paralyse verwertet werden kann.

8. Da mit den histochemischen Methoden das Ferritin nicht erfaßt wird und ein exakter, quantitativer Nachweis der Ferritinmenge zur Zeit kaum möglich ist, wurden chemische Eisenbestimmungen durchgeführt. Diese erfolgten nach der von Fuhrmann und Barkemeyer zur Bestimmung des Serumeisens angegebenen Methode. Dabei dient die Sulfosalicylsäure als Reagens zur quantitativen Eisenbestimmung. Ein Vorteil der Methode ist es, daß das Ferri- und Ferro-Eisen erfaßt wird, ohne daß man, wie bei den sonst üblichen Methoden, das Eisen zunächst entweder in die Ferro-Form oder Ferri-Form überführen muß. Ein weiterer Vorteil gegenüber der sehr verbreiteten Methode von Heilmeyer und Ploetner ist die Tatsache, daß die bei dieser Methode vor der Photometrie zur endgültigen Berechnung nötige Messung des Endvolumens der Phenantrolin-Eisen-Lösung, die aus physikalisch-technischen Gründen ungenau ist, fortfällt. Auch werden weniger Reagenzien benötigt. Bei zahlreichen Serumeisenbestimmungen und Eisenresorptionskurven hat sich uns diese Methode sehr gut bewährt. Nachdem wir uns so von der Brauchbarkeit der Methode, deren Ergebnisse nach den vergleichenden Untersuchungen von Overkamp mit denen der Heilmeyer-Ploetner-Methode gut übereinstimmen, überzeugt hatten, haben wir in der gleichen Weise Organeisenbestimmungen durchgeführt. Je nach dem zu erwartenden Eisengehalt wurden 1 oder 2 g des frischen Organs mit 2 cm^3 konzentrierter H_2SO_4 in einem Kjeldahl-Kolben aus Jenaer Glas über der Flamme erhitzt. Nach Abkühlen gaben wir $\frac{1}{2}$ cm^3 H_2O_2 hinzu und erhitzten wieder, bis dicke, weiße Dämpfe der Schwefelsäure auftraten. Nach Abkühlen wurde wieder H_2O_2 zugegeben und das so lange wiederholt, bis nur noch eine wasserklare Flüssigkeit im Kolben vorhanden war. Bei den Tieren, die reichlich Eisen erhalten hatten, entstand bei der Veraschung regelmäßig ein feiner, grauweißer Niederschlag, der sich aber bei Zugabe von Aqua bidest. und Erwärmung leicht löste. Sehr sorgfältig wurde die Flüssigkeit aus dem Kjeldahl-Kolben in einen Meßkolben umgefüllt und dann mit Aqua bidest. auf 1000 oder 2500 cm^3 aufgefüllt. Von dieser Flüssigkeit wurde dann nach gründlicher Durchmischung 1 cm^3 zur Eisenbestimmung verwandt. Immer wurde ein Leerwert mitbestimmt und in Abzug gebracht.

9. Zur Bestimmung des Gesamteiweißes im Serum wurde die Biuret-Methode angewandt. Zur fraktionierten Eiweißuntersuchung diente die Papierelektrophorese nach Turba und Enekel.

b) Versuche mit Normaltieren.

Diese Versuche wurden an sechs Kaninchen, deren Gewicht 2,1 bis 4,1 kg betrug, ausgeführt. Bei der Eisenbestimmung beschränkten wir uns im allgemeinen auf Leber, Milz und Niere. Die gefundenen Werte schwankten für die Leber zwischen 6,44 und 10,28 mg bzw. 8,25 bis 9,12 mg%, für die Milz 0,32—0,45 mg bzw. 17,29—70,31 mg%, für die Niere 0,36—1,09 mg bzw. 4,46—8,72 mg%. Diese Werte stimmen mit den Angaben von Andersson und den älteren Angaben von Starkenstein und Weden, Kojima und Loewy und Cronheim recht gut überein. Im übrigen zeigen die Literaturangaben und unsere Ergebnisse, daß man bei Kaninchen mit nicht unbeträchtlichen Schwankungen des Eisengehaltes in den einzelnen Organen zu rechnen hat. Das Alter der Tiere, die Art der Ernährung und durchgemachte Krankheiten mögen dabei eine Rolle spielen.

Bei der makroskopischen Berliner Blaureaktion färbte sich die Leber in jedem Fall schwach positiv bis mittelstark. Die Milz gab im allgemeinen eine mittelstarke Reaktion, die Nieren verhielten sich wechselnd (negativ bis schwach positiv). Die Duodenalschleimhaut war schwach positiv bis positiv. Einmal fand sich im Nebennierenmark eine schwach positive Reaktion. Herzmuskel, Pankreas, Lunge, Magen und Dickdarm blieben negativ.

Die histologische Untersuchung der Organe ergab keine pathologischen Veränderungen. Die Blutfreiheit der großen Gefäße war sehr deutlich. Auch die Capillaren enthielten nur einzelne Erythrocyten. Eisen konnte bei allen Tieren in der Milz gefunden werden. Dabei waren die Mengen sehr unterschiedlich und schwankten von schwach positiv bis mittelstark. Wir konnten damit die Angaben von Henriques und Okkels, Studer, Beilicke, Schurig, Vosskühler u. a. bestätigen. Lubarsch und Wallbach fanden dagegen beim normalen Kaninchen in der Milz kein Eisen. Die Leber zeigte bei den Normaltieren ganz geringe Mengen von Eisenpigment in einzelnen Sternzellen und auch gelegentlich in periportal gelegenen retikulären Zellen. Die Nieren waren immer frei von histochemisch nachweisbarem Eisen. Das Knochenmark zeigte — in Übereinstimmung mit den Befunden von Studer, Beilicke u. a. — regelmäßig einige mit feinkörnigem Eisenpigment beladene retikuläre Zellen. Im Duodenum fanden wir in Bestätigung der alten Angaben von Hochhaus und Quinke, Gaule, Hofmann, Mac Callum, Hall, Tartakowski u. a. immer Eisen. Dieses lag in der Submucosa, teilweise in den Capillarendothelien und in retikulären Zellen. Von jeher wurde dieser Befund als Ausdruck der Eisenresorption angesehen. Spuren von Eisen fanden sich in den Epithelien des Dickdarmes. Die übrigen Organe (Herz, Magen, Pankreas, Lunge, Gehirn, Nebenniere) waren eisenfrei.

Beim Vergleich der einzelnen Eisenreaktionen war die Übereinstimmung zwischen der quantitativen Bestimmung und der makroskopischen Berliner Blaureaktion recht gut. Dagegen zeigte die histologische Untersuchung im allgemeinen weniger Eisen als man nach der makroskopischen Berliner Blaureaktion hätte erwarten können.

Zu Aderlaßversuchen dienten zwei Tiere Nr. 19 u. 129 von 3,6 und 4,2 kg Gewicht. Es schien uns wegen der unterschiedlichen Literaturangaben (Haan u. a.) zunächst einmal wichtig zu sein, uns über die Blutbildwerte unserer Tiere zu informieren. Wir fanden bei 25 Bestimmungen einen Mittelwert von 13,12 g% Hämoglobin (11,36—16,00 g%) und 5,4 (4,8—7,1) Mill. Erythrocyten. Diese Werte stimmen in etwa mit denen von Klieneberger und Carl, Sjövall, Beilicke u. a. überein. Wenn auch zwischen den einzelnen Tieren selbst der gleichen Familie ein ziemlich großer Unterschied der Blutwerte bestehen kann, so haben wir doch im Gegensatz zu der Auffassung von Starkenstein immer

wieder beobachten können, daß beim gleichen Tier über Monate hin nur geringe Schwankungen auftreten. Im übrigen hat schon Lindberg darauf hingewiesen, daß das Blutbild bei Kaninchen nach dem sechsten Lebensmonat quantitativ und qualitativ stabil ist. Unser Mittelwert für die Retikulocyten betrug in guter Übereinstimmung mit Sjövall und Beilicke 29 (21—42) ‰. Der von Key angegebene Wert von 73‰ dürfte reichlich hoch liegen.

Nach diesen Voruntersuchungen wurden dann dem Tier 129 in 77 Tagen mit 10 Aderlässen 500 cm³ Blut entnommen. Die mittlere Aderlaßmenge betrug also 50 cm³. Das entspricht einen täglichen Blutverlust von 6,3 cm³. Dem Tier 19 wurden in 154 Tagen mit 19 Aderlässen 1085 cm³ Blut (das sind 7 cm³ täglich) abgenommen. Die mittlere Aderlaßmenge betrug in diesem Falle 57 cm³. Die Tiere vertrugen den Eingriff gut. Von Interesse ist das Verhältnis der abgenommenen Blutmenge zur Gesamtblutmenge der Tiere. Wenn auch die Blutmenge beim Kaninchen nicht genau bekannt ist und mit dem Gewicht und dem Alter der Tiere selbstverständlich schwankt, so haben sich doch zahlreiche Untersucher damit beschäftigt, eine Formel, mit der man die Blutmenge bestimmen kann, zu finden. Welker, Jolly, Douglas, Oerum u. a. nehmen an, daß die Blutmenge etwa 5% des Körpergewichtes beträgt. Haan gibt das Durchschnittsverhältnis der Blutmenge zum Körpergewicht mit 1:18,3 an. Das würde also für das Kaninchen 129 eine Blutmenge von 180 bzw. 199 cm³ und für Nr. 19 eine von 210 bzw. 229 cm³ ergeben. Bei 129 wäre demnach das 2,7fache und bei 19 das 5,1fache der Blutmenge in relativ kurzer Zeit entzogen worden. Nach dem jeweiligen Hämoglobinwert am Aderlaßtage wurde der Eisenverlust berechnet. Als Grundlage diente dabei die Tatsache, daß das Hämoglobin 0,336% Eisen enthält, also 100 cm³ Blut mit 16 g% Hämoglobin 54 mg% Eisen enthalten. Bei Tier 19 errechneten wir so einen Eisenverlust von 361 mg, bei Tier 129 von 203 mg. Diese Eisenverluste übersteigen zweifellos die Reserven der Tiere, wenn man bedenkt, daß nach Lintzel ein Kaninchen von 2 kg Gewicht insgesamt nur etwa 100 mg Eisen enthält. Trotz der hohen Blutverluste entwickelte sich bei beiden Tieren nur eine mäßige Anämie. Der Hämoglobinwert lag um 9,6 g%. Bei beiden Tieren kam es mit Beginn der Aderlässe zu einer Retikulocytensteigerung, die sich konstant zwischen 60—80‰ hielt.

Diese beiden Aderlaßversuche zeigen, daß die Fähigkeit der Kaninchen, Blutverluste zu regenerieren, außerordentlich groß ist. Das geht auch aus den Untersuchungen von Sjövall hervor. Diese spontane Regenerationsfähigkeit ist sicher häufig bei therapeutischen Untersuchungen (z. B. Schreiber, Oerum, Adlersberg und Gottsegen u. a.) zu wenig beachtet worden. Im Gegensatz zum Hund ist das Kaninchen, dem man praktisch keine eisenfreie Dauerkost verabreichen kann, als Versuchs-

tier für Eisenmangelanämien (= Blutungsanämien) völlig ungeeignet. Ein Eisenmangel wird bei ihm nie das Maß der Anämie bestimmen, sondern diese hängt nur von der Proliferationsmöglichkeiten des Knochenmarkes ab. Darauf kommen wir noch einmal zurück. Man darf aus diesem Verhalten schließen, daß die Eisenausnutzung und die Eisenresorption beim Kaninchen ganz ausgezeichnet ist.

Die Voraussetzung für eine so starke Blutneubildung wie wir sie bei unseren Aderlaßtieren fanden, ist eine Zunahme des aktiven Knochenmarkes. Diese ließ sich in der Tat nachweisen und war schon makroskopisch zu erkennen. Während beim Normaltier das Knochenmark zerfließlich weich ist, war es bei den Aderlaßtieren von einer leberähnlichen Konsistenz und ließ sich leicht schneiden.

Die mikroskopische Untersuchung zeigte eine sehr starke Zunahme der Erythropoese. Diese Bilder sind im übrigen schon aus den Arbeiten von Hoffmann, Leffkowitz, Lindenbaum, Istomanova, Beilicke, Sjövall u. a. bekannt und sind Ausdruck einer zweckmäßigen Reaktion des Organismus, der die Knochenmarksleistung dem Bedarf anpaßt. Diese Umstellung des Markes läßt sich bei Mensch und Tier schon nach einem Aderlaß feststellen. Dabei richtet sich die Stärke der Hämoglobinproduktion nach der Schwere der erzeugten Anämie (Robscheid-Robbins und Whipple). Um die Steigerung der Knochenmarkstätigkeit bei unseren Tieren auch zahlenmäßig belegen zu können, wurden bei Normal- und Aderlaßtieren bei einer Vergrößerung von 120 je 3 Gesichtsfelder des gleichen histologischen Markpräparates auf Papier aufgezeichnet. Die den Fettlücken bzw. dem Parenchym der Präparate entsprechenden Teile wurden dann ausgeschnitten und gewogen. Das Gesamtgewicht der drei Zeichnungen, die von jedem Tier angefertigt wurden, wurde als 100% angenommen und dann entsprechend dem Gewichtsanteil der Prozentsatz der Fettlücken und des Parenchyms berechnet. Wie die folgende Tabelle (Tab. 1) zeigt, fand sich bei den Aderlaßtieren fast eine Umkehr der normalen Verhältnisse.

Tabelle 1. *Das prozentuale Verhältnis der Fettlücken zum Parenchym im Knochenmark von Normal- und Aderlaßtieren.*

Normaltiere			Aderlaßtiere		
Nr.	Lücken	Zellen	Nr.	Lücken	Zellen
4744	69,6%	30,4%	129	25,8%	74,2%
× 2	70,3%	29,7%	19	40,8%	59,2%

Die übrigen Organe zeigten im histologischen Bild keine pathologischen Veränderungen und waren bis auf Milz, Duodenum und Dickdarm eisenfrei. Die Milz enthielt bei Nr. 129 etwas reichlicher Eisen als bei Nr. 19. Bei beiden Tieren muß aber die Reaktion als schwach positiv angegeben werden. Es war eigentlich etwas unerwartet, daß sich bei diesen Tieren trotz des hohen Eisenverlustes überhaupt noch Eisen in der Milz nachweisen ließ. Dieser Befund läßt zwei Deutungen zu: 1. daß von den Tieren aus der Nahrung so viel Eisen resorbiert wurde, daß nicht nur der laufende sehr hohe Bedarf gedeckt wurde, sondern daß auch noch die Depots aufgefüllt werden konnten, oder 2., und das ist wahrscheinlicher, daß nicht alles in den Depot-Organen befindliche Eisen mobilisiert worden ist. Es darf in

diesem Zusammenhang daran erinnert werden, daß Bagniard und Whipple und Hahn und Whipple bei ihren Aderlaß-Hunden auch nach lange fortgesetztem Blutentzug immer noch eine bestimmte Eisenmenge in der Leber fanden. Diese Eisenfraktion steht nicht für die Hämoglobinbildung zur Verfügung. Auf diesen wichtigen Befund werden wir später noch zurückkommen. Das Duodenum zeigte im Vergleich zu den Normaltieren eine erhebliche Zunahme des Eisengehaltes. Obschon der histologische Eisengehalt der Darmschleimhaut an sich nichts über eine resorptive oder exkretorische Tätigkeit des Darmes aussagen kann, so darf man im vorliegenden Falle die Zunahme des Eisengehaltes in Verbindung mit dem durch die Aderlässe bedingten erhöhten Eisenbedarf doch wohl als morphologisches Substrat einer gesteigerten Resorptionstätigkeit ansehen. Schwieriger ist die Erklärung des bei beiden Tieren in der Dickdarmschleimhaut vorkommenden Eisens. Es war mengenmäßig gegenüber den Normaltieren sicher etwas vermehrt. Daß hier Eisen beim Kaninchen vorkommt, war schon um die Jahrhundertwende bekannt und wurde oft so gedeutet, daß hier das Eisen ausgeschieden wird. Auf Grund unserer heutigen Kenntnisse über die geringe Ausscheidungsrate des Eisens ist diese Deutung sicher als falsch anzusehen. Dagegen ist die Frage, ob durch die Dickdarmschleimhaut Eisen resorbiert werden kann, zumindest für den Menschen noch umstritten (Büchmann, Hemmeler). Andererseits ist es erwiesen, daß im Bedarfsfall nicht nur das Duodenum, sondern auch weite Teile des übrigen Dünndarms zur Eisenresorption befähigt sind. Wir möchten deshalb bei unseren Aderlaßtieren in erster Linie an eine zusätzliche Eisenresorption im Dickdarm denken, da ja eine Ausscheidung kaum in Frage kommen kann.

Mit Hilfe von Eisenresorptionskurven konnte demonstriert werden, daß bei den Aderlaßtieren tatsächlich eine erhöhte Eisenresorption bestand. Die Tiere erhielten dabei nach 24stündigem Fasten mit der Schlundsonde 300 mg/kg Ferrochlorid in Form einer frischen Lösung verabreicht; denn auch Kaninchen resorbieren Ferro-Eisen besser als Ferri-Salze (Thoenes und Aschaffenburg, Fürth und Scholl u. a.).

Tabelle 2. *Eisenresorptionsversuche bei verschiedenen Kaninchen.*

Nr.	vorher	1h nach peroraler Eisengabe	2h nach peroraler Eisengabe	4h nach peroraler Eisengabe	
×	201	320	300	290	Normaltier
19	212	489	520	445	Aderlaßtiere
129	108	431	425	440	
12	262	250	280	269	Eisentiere
11	192	260	265	224	
11	182	227	195	193	
127	208	266	258	221	

Der gleiche Versuch wurde mit einem Normaltier und — wie hier schon erwähnt werden soll — mit Tieren, die hohe intravenöse Eisengaben erhalten hatten, angestellt. Die Gegenüberstellung in Tab. 2 läßt bei den Aderlaßtieren eine stark erhöhte Resorption erkennen. Wie weiter aus der Tabelle hervorgeht, liegen die normalen Serumeisenwerte beim Kaninchen höher als beim Menschen. Das ist seit den Untersuchungen von

Thoenes und Aschaffenburg bekannt. Diese Autoren gaben einen mittleren Serumeisenwert von 200 γ-% an. Unsere Werte lagen zwischen 165 und 200 γ-%. Ein Vergleich der Resorptionskurven der Aderlaß- und Eisentiere zeigt, daß auch beim Kaninchen — ähnlich wie beim Menschen — die Höhe der Eisenaufnahme durch den Bedarf geregelt wird.

Die Ergebnisse der chemischen Untersuchung der Organe von Tier 19 und 129 im Vergleich zu den Organen von Normaltieren zeigt die folgende Tab. 3:

Tabelle 3. *Organeisengehalt der Aderlaßtiere 19 und 129 im Vergleich zu Normalwerten.*

	Leber			Milz			Niere		
	Gw. g	Fe mg	mg %	Gew. g	Fe mg	mg%	Gew. g	Fe mg	mg %
Normal	112	10,28	9,12	1,12	0,32	28,57	8,72	0,39	4,46
19	142	6,97	4,89	1,77	0,16	9,03	12,08	0,44	3,64
129	110	13,10	11,90	1,32	0,61	46,21	14,90	0,30	2,01

Die Eisenwerte liegen bei Tier 19 — wie es nach dem histologischen Ergebnis zu erwarten war — relativ niedrig, aber die Organe sind keineswegs extrem eisenarm. Bei Tier 129 sind die Werte sogar trotz des hohen Eisenverlustes, den dieses Tier erlitten hat, völlig im Bereich der Norm.

Die makroskopische Berliner Blaureaktion dieser beiden Tiere ergab eine schwach positive bis mittelstarke Reaktion in der Leber und eine schwach positive in der Milz, bei einem Tier eine schwach positive in der Lunge und merkwürdigerweise bei allen Tieren eine schwach positive Reaktion im Nebennierenmark. Auch die Dünndarmschleimhaut war positiv. Alle übrigen Organe verhielten sich negativ. Im Zusammenhang mit der schwach positiven Reaktion in der Lunge eines Aderlaßtieres ist es interessant, daß Vannotti und Mitarb. bei Aderlaß-Kaninchen das Lungeneisen vermehrt fanden. Sie glauben, daß diese Erscheinung vielleicht in Beziehung steht mit der durch die erzeugte Anämie vermehrte respiratorischen Funktion der Lunge.

Außer diesen Untersuchungen wurde bei den Tieren 19 und 129 in etwa wöchentlichen Abständen das Serumeisen bestimmt. Bei beiden Tieren sank es nach Beginn der Aderlässe von normalen Werten zunächst auf niedrige Werte (um 100 γ-%) ab. Das wurde auch von Thoenes und Aschaffenburg und Locke und Mitarb. beobachtet. Bei Tier 129 schwankte der Serumeisenwert bis zum Tode zwischen 84 und 148 γ-%. Bei den länger lebenden Tier 19 stieg der Wert dagegen wieder an und erreichte kurz vor dem Tode sehr hohe Werte (um 300 γ-%). Die niedrigen Werte sind dadurch verständlich, daß die Bestimmungen am nüchternen Tier gemacht wurden und daß das Serumeisen infolge des schnellen Abströmens des Eisens in die Gewebe niedrig war. Dagegen ist das Wiederansteigen des Serumeisens bei Tier 19 nicht recht verständlich. Daß die

Normalisierung des Serumeisenwertes in diesem Fall nicht gleichbedeutend mit einem normalen Eisenbedarf war, zeigt die zu diesen Zeitpunkt gewonnene Resorptionskurve (s. Tab. 2).

Weiter wurden — allerdings in geringem Umfang — Serumeiweißuntersuchungen durchgeführt. Unsere normalen Werte für das Gesamteiweiß schwankten zwischen 6,45 und 7,35%. Dabei fanden wir etwa 71,3% Albumine, 7,25% Alpha-Globuline, 8,75% Beta-Globuline und 12,7% Gamma-Globuline. Die Werte unterscheiden sich also nicht wesentlich von den menschlichen Serumeiweißwerten. Allerdings gelang die Trennung der Alpha- und Beta-Globuline nicht immer vollständig. Bei dem Tier 19 betrug der Serumeiweißwert kurz vor dem Tode, also nach zahlreichen Aderlässen, die natürlich gleichzeitig auch einen Eiweißverlust bedeuten, 7 g% mit 71,4% Albuminen, 13,2% Alpha- und Beta-Globulinen und 14,7% Gamma-Globulinen. Die Serumeiweißwerte waren also nicht wesentlich verändert. Offenbar hält der Organismus sehr zäh an normalen Serumeiweißwerten fest. Beim Menschen ist es ähnlich. Kanzow konnte das kürzlich an einem Hungerkünstler zeigen, bei dem es trotz einer völligen Nahrungskarenz von 54 Tagen nur zu einem Rückgang des Serumeiweißes von 8,5 g% auf 7,2 g% ohne erhebliche Verschiebung der elektrophoretisch bestimmten Fraktionen kam. Auch Kawai fand bei Kaninchen — allerdings nach einer geringeren Aderlaßmenge als in unseren Versuchen — keine wesentliche Änderung des Serumeiweißwertes.

Wir können die Ergebnisse dieser ersten Versuchsreihe folgendermaßen zusammenfassen: Bei Kaninchen gelingt es trotz relativ großer Aderlässe bei normaler Ernährung nicht, eine dauernde Eisenmangelanämie zu erzeugen. Die spontane Regenerationsfähigkeit des Knochenmarkes ist sehr groß. Die zur Blutbildung nötigen Eisenmengen werden entsprechend dem Bedarf aus dem Darm resorbiert. Trotz langer Zeit durchgeführter Blutentnahmen wurden Milz und Leber nicht eisenfrei.

c) Versuche mit intravenösen Eisengaben.

Versuche mit intravenös verabreichtem Eisen sind bei fast allen Laboratoriumstieren mit verschiedenen Fragestellungen und zahlreichen Eisenverbindungen in kaum übersehbarer Menge ausgeführt worden. Es kann daher nur auf einen Teil dieser Arbeiten, soweit sie die von uns bearbeiteten Probleme berühren, eingegangen werden.

Seit den Untersuchungen von Ziegler, Jacobj, Lipski, Stender, Nissen, Beilicke, Lintzel, Boerner-Patzelt, Cremer, Wallbach u. a. ist die Tatsache, daß Eisen im RES gespeichert wird, gut bekannt. Besonders Leber, Milz und Knochenmark beteiligen sich daran. Dabei konnte Kahn noch 14 Monate nach der letzten Injektion Eisen in der Leber von Kaninchen nachweisen. Im übrigen sei auf die Arbeiten von Pfeiffer u. Standenath, Henriques u. Okkels, Starkenstein, Starkenstein u. Weden verwiesen.

Auch die Frage, ob eine hohe parenterale Eisenzufuhr zur Hämochromatose führen kann, wurde schon vor einigen Jahren bearbeitet. Rous u. Oliver machten bei Kaninchen monatelang Bluttransfusionen. Die Tiere bekamen dann eine starke Hämosiderose, aber keine Hämochromatose. Insbesondere waren die Langerhansschen Inseln des Pankreas immer völlig unversehrt. Auch Cappel kam trotz ekzessiv hoher Eisendosen und langdauernder Versuche bei Ratten zum gleichen Ergebnis. Eine Leberschädigung trat nicht ein. Das Pankreas blieb eisenfrei. Auch Polson konnte bei zahlreichen Versuchen nur bei einem Kaninchen eine Lebercirrhose feststellen, ein Befund, der in seiner Einmaligkeit nicht beweisend für eine Eisenschädigung ist. Ebenso konnte Menkins mit i. v. verabreichtem Ferrichlorid nur eine Hämosiderose erzeugen. Eppinger fand bei seinen bekannten Versuchen eine Speicherung von kolloidalem Eisen in den Sternzellen und nur nach vorheriger Leberschädigung auch eine Ansammlung in den degenerierten Leberzellen. Finch u. Mitarb. fanden, daß bei Hunden der primäre Speicherungsort von der Form, in der das Eisen zugeführt wurde (z. B. Eisensalze, Hämoglobin-Lösung, Erythrocyten), abhängt. Im Laufe der Zeit wird dann das Eisen progressiv zur Leber transportiert und nach Überfüllung der Leber werden dann auch die „sekundären Eisenreceptoren", d. h. alle übrigen speicherungsfähigen Gewebe des Organismus ebenfalls mit Eisen beladen. Diese Autoren halten es für möglich, daß eine große Eisenmenge toxisch auf das Gewebe wirkt und zur Fibrose führen kann. Auf diese Weise soll — sei es als Folge ekzessiver Eisenresorption oder parenteraler Eisenzufuhr — das klinische und pathologisch-anatomische Bild der Hämochromatose entstehen können.

Seit Einführung der modernen Ferri-Präparate ist dann die Frage der Schädigung durch Eisen wiederholt bearbeitet worden (Studer, Hemmeler, Vannotti u. Mitarb., Andersson u. a.). Man kann nach Durchsicht dieser Arbeiten feststellen, daß weder bei den älteren noch bei den neueren Untersuchungen beim Kaninchen durch Eisensalze sichere Schädigungen hervorgerufen werden konnten. Aber es wird mit der Möglichkeit gerechnet, daß bei übermäßiger Speicherung Funktionsstörungen in den Zellen auftreten können.

Wir haben nun, um die Verträglichkeit des von uns verwandten Eisenpräparates zu prüfen, einem Kaninchen (Nr. 125) von 3,5 kg Gewicht in 10 Tagen 1600 mg Eisen i. v. verabreicht. Die Einzeldosen waren absichtlich hoch gewählt und betrugen jeweils 200 mg = 57 mg/kg. Diese hohen Dosen führten am Ohr des Tieres mehrmals zu lokalen Reizungen mit Infiltraten. Die Freßlust und die Beweglichkeit des Tieres ließen nach. Vier Tage nach der letzten Injektion kam es zu einer Parese der Hinterbeine. Das Tier machte einen schwerkranken Eindruck und wurde getötet. Zentrale Lähmungen als Folge von Eisenintoxikationen waren schon Frank, Köliker und Müller, Meyer und Williams bekannt und kommen im allgemeinen nur bei Ferro-Vergiftungen (Henriques und Okkels, Starkenstein und Weden) vor. Diese Beobachtung legt den Verdacht nahe, daß in dem verwandten Präparat in geringem Maße freie Ferro-Ionen vorhanden waren und mahnt zur Vorsicht gegenüber der Anwendung allzu hoher Dosen in der Therapie. Im übrigen geht die Ungleichwertigkeit der im Handel befindlichen Eisenpräparate auch aus den Versuchen von Meyer hervor.

Ein zweites Kaninchen (Nr. 123) von 3,2 kg Gewicht erhielt in 45 Tagen 3900 mg Eisen i. v. Diese Gesamtdosis würde bei einem 60 kg

schweren Menschen 73 g entsprechen. Die tägliche Dosis wurde von 20 mg = 6,2 mg/kg auf 100 mg = 31 mg/kg gesteigert. Die durchschnittliche Tagesdosis betrug 86,6 mg. Auch bei schneller Injektion waren Unverträglichkeitserscheinungen nicht zu beobachten. Das Allgemeinverhalten und das Gewicht des Tieres blieben unverändert. Das Tier wurde 14 Tage nach der letzten Injektion getötet. Die histologische Untersuchung ergab eine außerordentlich starke Eisenspeicherung in fast allen Organen. Besonders reichlich fand sich das Eisen in der Milz. Schon im Hämalaum-Präparat erkannte man klumpige Anhäufung von gelblichem Hämosiderin. Besonders deutlich wurde die Eisenspeicherung im Berliner-Blau-Präparat. Es fanden sich intra- und extracellulär grobe Anhäufungen im Retikulum, während die Lympholikel völlig frei blieben. Auch in der Leber fand sich reichlich Eisen, das besonders in den vergrößerten Kupfferschen Sternzellen lokalisiert war. Außerdem zeigten zahlreiche Leberzellen eine fein granulierte Eisenspeicherung. In den Nieren waren besonders die Glomeruli und daneben auch die Tubuli contorti mit Eisen beladen. Ebenso zeigten die vergrößerten retikulären Zellen des Knochenmarkes eine sehr starke, klumpige Eisenspeicherung. In der Nebenniere fand sich das Eisen besonders in der Rinde. Im Mark waren dagegen nur einige interstitielle Zellen mit Eisen angefüllt. Auch in den retikulären Zellen der Lunge, in der Submucosa des Dünn- und Dickdarmes und auch in geringerem Maße des Magens fand sich Eisen. Selbst im Herzmuskel waren einige mit Eisenpigment beladene interstitielle Zellen zu sehen. Die eisenhaltigen Zellen waren im allgemeinen vergrößert und so stark angefüllt, daß Einzelheiten nicht mehr zu erkennen waren.

Für alle weiteren Versuche wählten wir dann eine kleinere Dosis, und zwar 100 mg/kg Eisen i. v. Bei einem Menschen von 60 kg Gewicht würde das 6000 mg entsprechen, also einer Dosis die höher ist, als die im allgemeinen therapeutisch angewandte. Die bei den einzelnen Injektionen verabreichte Menge betrug im allgemeinen 100 mg.

Die Tiere Nr. 13 und 15 mit Gewichten von 3,4 und 3,3 kg erhielten dementsprechend 340 bzw. 330 mg Eisen und wurden 3 bzw. 4 Tage nach der letzten Injektion getötet. Makroskopisch konnte an den Organen kein krankhafter Befund erhoben werden. Die quantitative Eisenbestimmung ergab folgende Werte (Tab. 4):

Tabelle 4. *Eisengehalt verschiedener Organe nach i. v. Verabreichung von 100 mg/kg Ferri-Saccharat.*

	Nr. 13			Nr. 15			Normal		
	Gew. g	Fe mg	mg %	Gew. g	Fe mg	mg %	Gew. g	Fe mg	mg %
Leber . .	132	161,82	122,40	117	178,26	152,09	112,00	10,28	9,12
Milz . .	3,02	18,83	623,50	1,70	5,44	320,00	1,12	0,32	28,57
Niere . .	9,82	3,65	37,16	10,80	3,63	33,61	8,72	0,39	4,46

Die Zunahme des Eisengehaltes in Leber, Milz und Niere ist sehr deutlich. Während die Werte für Leber und Nieren recht gut übereinstimmen, differieren die Milzwerte erheblich. Solche Unterschiede im Eisengehalt der Milz nach Eisenspeicherung wurden auch von Andersson gefunden. Ob das für unsere Tiere recht hohe Milzgewicht von 3,02 g bei Kaninchen 15 mit der Eisengabe in Zusammenhang steht, kann nicht sicher entschieden werden. Doch fand Andersson gerade bei Tieren, die kurze Zeit nach der Eisengabe getötet wurden, höhere Milzgewichte als bei später untersuchten.

Auf das Verhältnis der in den Organen gefundenen Eisenmenge zur gegebenen Eisenmenge soll später eingegangen werden.

Der histologische Befund war bei beiden Tieren praktisch gleich. Abgesehen von der Eisenspeicherung konnten keine pathologischen Veränderungen festgestellt werden.

In der Milz fand sich im Retikulum reichlich scholliges, meist intracellulär gelegenes Eisenpigment. Auch in den Capillarendothelien fand sich reichlich Eisen. Daneben kamen auch extracelluläre Eisenablagerungen vor. Die Lymphfollikel waren völlig eisenfrei. Die Hämosiderinablagerung ließ sich übrigens infolge ihrer Eigenfarbe auch bei der Betrachtung von entparaffinierten, ungefärbten Schnitten nachweisen.

In der Leber waren die Sternzellen erheblich geschwollen, und sprangen ins Lumen der Sinusoide vor. Das Eisenpigment war in ihnen ziemlich grobkörnig abgelagert. Auch hier waren die Capillarendothelien an der Speicherung beteiligt. Geringe feinkörnige Eisenablagerungen waren auch in den Leberzellen zu sehen.

In der Niere fand sich — übereinstimmend mit den Befunden von Andersson — das Eisen ziemlich grobkörnig, vorwiegend in den Glomerulusschlingen und in geringeren Mengen feinkörnig in den Tubuli contorti und auch geringfügig im interstitiellen Gewebe. Studer fand dagegen bei seinen Versuchen mit Ferronascin das umgekehrte Verhalten.

Eine erhebliche Eisenspeicherung wies das Knochenmark auf. Auch hier war im Hämalaun-Eosin-Präparat schon eine Hämosiderinanhäufung zu erkennen. In den Eisenpräparaten sah man bei der Übersichtsmikroskopie meist an den Schnittpunkten des Maschennetzes dicke, blaue Pigmentablagerungen. Bei stärkerer Vergrößerung erkannte man große Zellen, deren Leib prall mit Eisenpigment gefüllt war, wobei der Kern völlig aus der Mitte verdrängt wurde. Die Capillarendothelien stellten sich infolge der positiven Eisenreaktion gut dar. Diese Speicherung in den Endothelien wurde auch schon von Cremer u. Mimuro bei ihren Versuchen gefunden. In den Riesenzellen, die im Kaninchenknochenmark reichlich vorhanden sind, fanden wir keine granuläre Speicherung. Nur fand sich häufig eine blaß-blaue Färbung des Plasmas, die möglicherweise Folge eines starken Ferritingehaltes sein kann (Finch u. Mitarb.). Die Vergrößerung der retikulären Zellen im Mark, auf die besonders Studer hinweist, war auch in unseren Präparaten deutlich.

Die Nebennieren zeigten besonders im Mark reichlich Eisen.

Auch in der Lunge fanden sich zahlreiche, prall mit Eisen gefüllte retikuläre Zellen. Auch hier kamen infolge der Speicherung an mehreren Stellen die Capillarendothelien gut zur Darstellung. Auffallend war eine reichliche Eisenablagerung in der Media einiger Lungenarterienäste. Eine ähnliche Eisenablagerung in Gefäßwänden fanden Rous u. Oliver bei Kaninchen nach zahlreichen Bluttransfusionen.

Brown u. Mitarb. beschreiben Eisenablagerungen in der Gefäßwand nach i. v. Zufuhr bei einem Hund.

Gehirn, Pankreas und Magen waren völlig eisenfrei. Nur im lockeren Bindegewebe des Pankreas fanden sich vereinzelt eisenpositive Zellen.

In der Submucosa des Dünndarms fand sich das Eisen etwa in der gleichen Menge, wie es auch bei den Normaltieren nachzuweisen war. Dagegen fanden sich reichlicher Eisenablagerungen in der Submucosa des Dickdarmes. Gelegentlich waren auch in den Schleimhautepithelien geringe Eiseneinlagerungen zu erkennen. Auf diesen Befund legt Studer besonderen Wert und deutet ihn als Folge einer Eisenausscheidung im Dickdarm.

Der Herzmuskel war ebenso wie die periphere Muskulatur eisenfrei. Doch fanden sich auch hier gelegentlich kleinere Eisenmengen in den zwischen den Muskelbündeln verlaufenden Capillarwänden.

Das Knochenmark zeigte aber bei diesen Tieren außer der Eisenspeicherung auch noch eine andere sehr bemerkenswerte Veränderung, nämlich eine deutliche Zunahme des Zellgehaltes. Den gleichen Befund zeigten auch, wie hier schon erwähnt werden soll, die in der nächsten Versuchsreihe als Kontrolltiere mit Eisen behandelten Kaninchen. Die genauen Zahlenverhältnisse für die Tiere 13 und 15 und die erwähnten Kontroll-Tiere (11, 12, 124), sind aus der folgenden Tabelle zu entnehmen.

Tabelle 5. *Das prozentuale Verhältnis von Fettlücken zum Parenchym im Knochenmark von eisen-behandelten Kaninchen.*

Nr.	Lücken	Zellen
Normal	69,6%	30,4%
13	54,6%	45,4%
15	54,6%	45,4%
11	54,7%	45,3%
12	57,8%	42,2%
127	45,1%	54,9%

Bei diesem regelmäßig angetroffenen Befund kann es sich nicht um einen Zufall handeln. Im übrigen berichten auch Nissen, Altschäffl u. Schreiber über die Stimulierung des Knochenmarkes mit Zellvermehrung nach i. v. Eisengabe. Auch Andersson fand bei einigen Tieren nach Eiseninjektionen eine lebhaftere Erythropoese. Studer fand dagegen bei hochdosierten Eiseninjektionen eine leicht herabgesetzte Erythropoese. Auch Cremer berichtet bei seinen Eisentieren über ein im Vergleich zu Normaltieren zellärmeres Mark. In unseren Fällen war die Zunahme des Markes in erster Linie bedingt durch eine Vermehrung der Erythropoese. Unwillkürlich drängt sich hier der auf ältere Vorstellungen (Trousseau, von Norden, Naegeli u. a.) zurückgehende und gerade zur Zeit wieder umstrittene (Heilmeyer, Büchmann) Begriff des Reizeisens auf. Tatsächlich bewirkt ja eine Eiseninjektion beim gesunden Menschen eine vorübergehende Retikulocytensteigerung (Goetsch u. Mitarb.), die auch im Tierexperiment (Beilicke, Cremer) reproduzierbar ist. Overkamp konnte das bestätigen und fand vor und nach einer einzelnen Eiseninjektion bei vergleichenden Markuntersuchungen eine außerhalb der Fehlerbreite liegende Vermehrung der Erythropoese.

Die makroskopische Berliner Blau-Reaktion zeigte bei den Tieren 13 und 15 den gleichen Ausfall. Leber und Milz waren tief-dunkelblau. Die Nieren ergaben eine

mittelstarke Reaktion. Die Lungen waren schwach positiv. Etwa die gleiche Farbintensität wie die Lunge zeigten Herz, Nebennierenmark, Dünn- und Dickdarm. Magen und Pankreas blieben negativ.

Die Ergebnisse dieser Versuche können folgendermaßen zusammengefaßt werden: Nach i. v. Eisenzufuhr kommt es zu einer Speicherung, vorwiegend in Milz, Leber und Knochenmark und darüber hinaus in allen anderen untersuchten Organen mit Ausnahme von Pankreas, Magen und Gehirn. Ein Teil des Eisens liegt als Hämosiderin vor, ein anderer Teil vermutlich als Ferritin. Im kurzfristigen Versuch waren keine Organschädigungen nachzuweisen. Das Knochenmark zeigt eine deutliche Zellproliferation. Die Verträglichkeit des angewandten Eisenpräparates war sehr gut. Erst bei einer Dosis von 457 mg/kg kam es nach einigen Tagen zu zentralen Lähmungen.

d) Versuche mit intravenösen Eisengaben und Aderlässen.

Da infolge der dargestellten schnellen Blutneubildung bei Kaninchen eine chronische Blutungsanämie, die zur Testung einer neuen Eisentherapie dienen könnte, nicht erzeugt werden kann, haben wir zur Prüfung der Wirksamkeit des dreiwertigen Eisens gewissermaßen den umgekehrten Versuch gemacht, indem wir Kaninchen eine bestimmte Menge von dreiwertigem Eisen verabreichten und untersuchten, ob das in den verschiedenen Organen deponierte Eisen bei einer durch Aderlässe erzeugten Blutneubildung herangezogen wird. Anders formuliert lautet die Frage, ob das i. v. zugeführte Eisen eine Vermehrung des physiologischen Depoteisens darstellt.

Untersuchungen mit einer solchen Fragestellung sind bisher nur selten angestellt worden. Finch u. Mitarb. haben einem Hund nach der Injektion von 2400 mg Eisen durch Aderlässe 1700 mg wieder entzogen. Von diesem Zeitpunkt ab war der Hund nicht mehr in der Lage, weitere Blutverluste auszugleichen und es entwickelte sich eine Anämie mit niedrigem Serumeisen. Die histologische Untersuchung ergab reichlich Hämosiderin in den Organen. Obschon Eisen dringend zur Blutbildung benötigt wurde, wurde also das im Organismus vorhandene Hämosiderin nicht völlig mobilisiert.

Remy fand dagegen, daß bei Kaninchen das i. v. zugeführte dreiwertige Eisen durch Aderlässe schnell aus den Depotorganen mobilisiert werden kann.

Hier liegt also ein Widerspruch vor, dessen Bearbeitung uns aus theoretischen und praktischen Gründen wünschenswert zu sein schien.

Tabelle 6. *Organeisengehalt der Eisenaderlaßtiere 14, 16, 17 und*

	Nr. 14 Fe + Aderl.			Nr. 12 Fe			Nr. 16 Fe + Aderl.		
	Gew. g	Fe mg	mg%	Gew. g	Fe mg	mg %	Gew. g	Fe mg	mg %
Leber	75,0	114,0	150,0	93,0	177,0	188,0	114,0	82,0	72,0
Milz	1,6	4,0	244,0	2,2	8,2	372,0	2,0	2,5	122,0
Niere	10,0	1,7	16,0	10,0	3,1	29,0	12,0	1,6	13,0

Unsere Versuche wurden an sechs Kaninchen (Nr. 11, 12, 14, 16, 17 und 127) durchgeführt. Alle erhielten 100 mg/kg Eisen i. v. Bei drei Tieren wurden dann laufend Aderlässe durchgeführt. Die restlichen Kaninchen dienten als Kontrolle.

Die *erste Gruppe* besteht aus den Tieren Nr. 14 und 12 mit Gewichten von 2,9 und 3,1 kg. Sie erhielten 290 bzw. 310 mg Eisen. Der Hämoglobinwert lag bei dem Kontrolltier Nr. 12 zwischen 12,48 und 13,28 g%. Die Erythrocytenzahl schwankte zwischen 5,3 und 6,1 Mill. Dem Tier 14 wurden in 52 Tagen mit 9 Aderlässen 245 cm³ Blut abgenommen. Die durchschnittliche Aderlaßgröße betrug also 27 cm³ und der tägliche Blutverlust 4,7 cm³. Bei einer errechneten Blutmenge von 145—158 cm³ wurde demnach durch die Aderlässe etwa das 1,6fache der Blutmenge entzogen. Nach dem jeweiligen Hämoglobinwert am Aderlaßtag berechnet entspricht das insgesamt einem Eisenverlust von 101 mg, das ist etwa ein Drittel der injizierten Eisenmenge. Darüber hinaus muß auch noch eine, von uns nicht bestimmte renale Eisenausscheidung angenommen werden. Doch dürfte der dadurch bedingte Eisenverlust nur wenige Prozent der injizierten Menge (STUDER) ausmachen und für die vorliegende Fragestellung nur von relativ geringer Bedeutung sein. Tier 14 vertrug die Aderlässe gut. Es behielt sein Körpergewicht und zeigte keinerlei Veränderungen seines Allgemeinbefindens. Die sich entwickelnde Anämie war nicht sehr hochgradig. Der Hämoglobinwert lag um 9,6 g%.

Nach dem letzten Aderlaß wurde bei allen Tieren in dieser Versuchsreihe vor der Tötung abgewartet, bis der Ausgangswert des Hämoglobins in etwa wieder erreicht war. Das war bei Tier 14 schon nach zwei Wochen der Fall.

Die quantitativen Eisenwerte von Leber, Niere und Milz sind für die Tiere 14 und 12 aus der folgenden Tabelle (Tab. 6) zu entnehmen. Der Unterschied der Eisenwerte zwischen dem Aderlaßtier und der Kontrolle ist in allen untersuchten Organen deutlich.

Das Ergebnis der histologischen Untersuchung des Kontrolltieres glich weitgehend den beschriebenen Befunden von den Tieren 13 und 15 und braucht daher nicht noch einmal geschildert zu werden. Nur fand sich

der Kontrolltiere 12, 11, 127 im Vergleich zu Normalwerten.

Nr. 11 Fe			Nr. 17 Fe + Aderl.			Nr. 127 Fe			Normal		
Gew. g	Fe mg	mg %	Gew. g	Fe mg	mg%	Gew. g	Fe mg	mg%	Gew. g	Fe mg	mg %
126,0	192,0	152,0	119,0	79,0	66,0	99,0	326,0	326,9	112,0	10,2	9,1
2,2	15,0	709,0	2,5	2,7	111,0	3,3	17,0	515,0	1,1	0,3	28,5
12,0	3,3	26,0	14,0	1,1	7,9	11,0	6,9	60,0	8,7	0,3	4,4

jetzt mehr Eisen in den Leberparenchymzellen. Die Präparate des Eisenaderlaßtieres 14 zeigten nun dagegen einige bemerkenswerte Unterschiede. Am auffallendsten war der weitgehende Rückgang der Eisenspeicherung im Knochenmark. Die Präparate unterschieden sich bezüglich des Eisengehaltes nur wenig von Normaltieren. Die Steigerung des Zellgehaltes im Knochenmark war deutlich und konnte auch zahlenmäßig erfaßt werden. Aber sie hielt sich bei Tier 14 nur in etwa der gleichen Höhe wie bei den Tieren, die ohne Aderlaß unter der Einwirkung des Eisenreizes standen (Tab. 7).

Leber, Milz, Lunge und Nebenniere enthielten wesentlich weniger Eisen als das Kontrolltier. Die Nieren waren beim Eisenaderlaßtier im Gegensatz zur Kontrolle eisenfrei. Magen, Pankreas, Gehirn und Herzmuskel zeigten, wie zu erwarten, bei beiden Tieren ein negatives Verhalten. Die Duodenalschleimhaut enthielt beim Versuchstier und bei der Kontrolle etwa gleich viel Eisen. Der Eisengehalt der Dickdarmschleimhaut war dagegen etwas geringer geworden. Entzündliche oder degenerative Veränderungen konnten in keinem Organ festgestellt werden.

Tabelle 7. *Das prozentuale Verhältnis von Fettlücken zum Parenchym im Knochenmark von Eisenaderlaßtieren im Vergleich zu Normal-, Aderlaß- und Eisentieren.*

	Lücken	Zellen
Normaltier . . .	70,3	29,7
Fe-Tier	54,6	45,4
Fe + Aderl. $^1/_3$	55,9	44,1
Fe + Aderl. $^2/_3$.	39,1	60,9
Fe + Aderl. $^3/_3$.	42,2	57,8
Aderlaßtier . . .	40,8	59,2

Die makroskopische Berliner-Blau-Reaktionzeigte im Gegensatz zu den histologischen und chemischen Untersuchungen bei beiden Tieren keinen Unterschied und entsprach in ihrem Ausfall den Tieren 13 und 15. Die Ursache dafür ist darin zu suchen, daß beim Überschreiten eines bestimmten Eisenwertes eine weitere Zunahme der Blauintensität nicht mehr möglich ist. Der Wert der makroskopischen Berliner-Blaureaktion ist also unter diesen Bedingungen eingeschränkt und hat dann nur die Bedeutung einer orientierenden Probe, während dagegen — wie erwähnt — bei niedrigen Werten eine recht gute Übereinstimmung zwischen dem Ausfall der Reaktion und dem chemisch bestimmten Eisengehalt besteht. Wie die weiteren Versuche zeigten, dürfte in der Leber bei einem Eisengehalt von etwa 75 mg% das Maximum an Blaufärbung erreicht sein.

Die *zweite Gruppe* bestand aus den Tieren 16 und 11 (3,4 und 4,0 kg). Sie erhielten gleichzeitig die übliche Eisendosis i. v. Während eines Zeitraumes von 109 bzw. 104 Tagen verhielten sich beide Tiere völlig normal. Bei der Kontrolle (11) betrug der Hämoglobinwert anfangs 12,8 g% und kurz vor dem Tode 13,18 g%. Die Erythrocytenzahl schwankte zwischen 4,7 und 5,6 Mill. Dem Tier 16 wurden in 78 Tagen mit 13 Aderlässen

630 cm³ Blut entzogen. Die durchschnittliche Aderlaßgröße war 48 cm³, der tägliche Blutverlust 8 cm³. Da sich die Blutmenge auf 170 bzw. 185 cm³ berechnen läßt, wurde dem Tier also das 3,7fache der Blutmenge entzogen. Das entsprach einem Eisenwert von 220 mg, also etwa zwei Drittel der injizierten Menge. Unter den Aderlässen schwankte der Hämoglobinwert zwischen 8,8 und 9,6 g%. 23 Tage nach dem letzten Aderlaß war der Ausgangswert wieder erreicht.

Der Eisengehalt von Leber, Milz und Niere zeigt bei diesem Eisenaderlaßtier einen weiteren Rückgang (siehe Tab. 6).

Das histologische Bild ergab beim Kontrolltier 11 den schon bekannten Befund der Eisenspeicherung. Dabei war allerdings die Zunahme des Eisenpigmentes in den Leberparenchymzellen noch deutlicher geworden. Beim Vergleich der histologischen Bilder von Tier 16 mit denen des vorhergehenden Eisenaderlaßtieres (Nr. 14) ergab sich eine weitere Abnahme des Eisens in der Leber und in geringerem Maß, in der Milz. Außer Gehirn, Pankreas, Magen, Niere und Herzmuskel waren jetzt auch die Lungenschnitte eisenfrei. In der Duodenalschleimhaut war der Eisengehalt unverändert. In der Submucosa des Dickdarmes war immer noch Eisen vorhanden, aber weniger als bei dem vorhergehenden Eisenaderlaßtier. Das Knochenmark enthielt wenige eisenpositive Zellen und zeigte eine erhebliche Steigerung des Zellgehaltes (Tab. 7).

Die makroskopische Berliner-Blau-Reaktion zeigte jetzt im Gegensatz zur ersten Gruppe einen deutlichen Unterschied zwischen den beiden Tieren. Während bei dem aderlaßfreien Kontrolltier der Ausfall der Reaktion dem der übrigen Eisentiere entsprach, war der Rückgang des Eisengehaltes bei Tier 16 besonders gut am Lungenpräparat, aber auch an Leber, Milz und Nieren abzulesen.

Die *dritte Gruppe* bestand aus den Tieren 17 und 127 (4,6 und 4,3 kg). Der Hämoglobinwert des Kontrolltieres schwankte zwischen 13,6 und 13,28 g%, die Erythrocytenzahl zwischen 6,0 und 4,5 Mill. Dem Tier 17 wurden in 145 Tagen mit 24 Aderlässen 1375 cm³ Blut abgenommen. Die durchschnittliche Aderlaßgröße betrug also 57 cm³, der tägliche Blutverlust 9,5 cm³. Bei einer Blutmenge von 215—234 cm³ wurde dem Tier das 6,3fache der Blutmenge abgenommen. Das entsprach einem Eisenverlust von 460 mg, also bei Vernachlässigung des renalen Eisenverlustes drei Drittel der injizierten Menge. Die sich entwickelnde Anämie bewegte sich zwischen 8,0 und 9,6 g% Hämoglobin.

Bei diesen beiden Tieren wurden außer den üblichen Untersuchungen auch laufend die Retikulocyten gezählt. Sie schwankten beim Kontrolltier 127 zwischen 22 und 40‰. Beim Eisenaderlaßtier lag der Normalwert zwischen 32 und 36‰. Schon nach den ersten Aderlässen stieg er bis 92‰ an. In der Folgezeit lag dann die Retikulocytenzahl ständig um 60‰ und fiel nach Beendigung der Blutabnahmen schnell auf 17‰ ab.

Gegenüber den Aderlaßtieren ohne Eisengabe ergab sich also kein wesentlicher Unterschied.

Die chemische Eisenbestimmung hatte nun ein etwas überraschendes Ergebnis. Obschon mit den Blutentnahmen diesem Tier (Nr. 17) eine Eisenmenge entzogen worden war, die der injizierten Eisenmenge entsprach, enthielten alle untersuchten Organe noch reichlich Eisen. Die absoluten Werte haben sich im Vergleich zu dem Eisenaderlaßtier 16, dem nur zwei Drittel der gegebenen Eisenmenge entzogen worden war, praktisch nicht weiter vermindert (siehe Tab. 6). Die Steigerung gegenüber den Normalwerten ist immer noch sehr deutlich.

Das Kontrolltier 127, das unter den Tieren dieser Versuchsreihe insofern eine Sonderstellung einnimmt, als es allein einer anderen Rasse angehörte, zeigte Eisenwerte, die deutlich höher lagen als die der anderen Kontrolltiere. Dieser Befund läßt sich schwer deuten. Zwar hat dieses Tier infolge seines Gewichtes absolut die größte Eisenmenge erhalten. Doch genügt diese Tatsache alleine wohl nicht als Erklärung und wir halten es für möglich, das bei dem unterschiedlichen Verhalten die verschiedene Rasse eine Rolle spielen kann.

Auch die histologische Untersuchung ergab, daß das Eisenaderlaßtier 17 wesentlich mehr Eisen als die Normaltiere enthielt. Besonders Milz und Leber zeigten reichlich Eisen. Dabei fiel bei den Leberschnitten auf, daß ziemlich viel Eisen in den Parenchymzellen vorhanden war, während zahlreiche Sternzellen jetzt eisenfrei waren. Man darf daraus wohl schließen, daß das Eisen in den Parenchymzellen fester verankert ist als in den Sternzellen. In den Glomerulusschlingen war Eisen in mäßiger Menge vorhanden. Das Knochenmark zeigte nur einzelne eisenpositive Zellen und entsprach in seiner Aktivität dem Mark von Tier Nr. 16 (siehe Tab. 6). Bemerkenswert war, daß die Dickdarmschleimhaut fast eisenfrei war und daß dagegen die Präparate der Duodenalschleimhaut eine erhebliche Zunahme eisenhaltiger Zellen zeigte, so daß die Bilder den beschriebenen Befunden von den reinen Aderlaßtieren durchaus glichen. Die Nebennieren enthielten nur etwas Eisen in retikulären Zellen. Alle übrigen Organe waren eisenfrei. Das Kontrolltier 127 zeigte im wesentlichen die gleichen Ergebnisse wie die übrigen Eisentiere. Erwähnenswert war das Vorkommen von bläulich-tingierten Leberzellen, was — wie erwähnt — vielleicht als Folge einer Ferritin-Anreicherung angesehen werden darf. Irgendwelche degenerativen oder entzündlichen Veränderungen konnten bei beiden Tieren in keinem Organ nachgewiesen werden.

Die makroskopische Berliner-Blau-Reaktion entsprach bei Nr. 127 dem Ausfall der übrigen Eisentiere und bei Nr. 17 im allgemeinen dem Ausfall des Eisenaderlaßtieres 16. Auffallend war nur das Verhalten der Lunge. Während sie bei dem vorhergehenden Aderlaßtier 16 fast farblos war, zeigte sie jetzt bei dem Eisenaderlaßtier 17 eine mittelstarke Reaktion, die sich in der Farbintensität kaum vom Kontrolltier

unterschied. Bei beiden Tieren haben wir deshalb den Eisengehalt der Lunge bestimmt. Für Nr. 17 erhielten wir 1,5 mg = 9,09 mg%. Das Kontrolltier lag mit einem Wert von 1,51 bzw. 11,31 mg% in der gleichen Höhe.

Außer diesen Untersuchungen wurden auch bei einigen Tieren dieser Versuchsreihe *Serumeisenbestimmungen* durchgeführt. Bei den Eisentieren hielt sich in den Tagen nach der Injektion der Wert um etwa 300 γ-% und fiel nach Tagen bis wenigen Wochen wieder auf normale Werte ab. Bei Tier 16 sank nach mehreren Blutentnahmen das Serumeisen auf 134 γ-% ab. Ähnlich verhielt sich auch das laufend kontrollierte Aderlaßtier 17. 5 Tage nach der letzten Eisengabe betrug bei ihm das Serumeisen 226 γ-% und fiel dann unter den Aderlässen auf 180, 146, 132, 98, 117, 120 γ-% ab. Erst am Ende der Aderlaßserie stieg es dann wieder auf 165 γ-% an.

Die Serumeiweißwerte schwankten bei dem Eisentier 127 zwischen 7,35 und 7,6 g%. Die Differenzierung hatte vier Monate nach der Eisengabe folgendes Ergebnis: Albumin 63,3%, Alpha-Globulin 3,46%, Beta-Globulin 10,6%, Gamma-Globulin 22,7%. Diese Werte sind also innerhalb der Schwankungsbreite als normal anzusehen. Bei dem Eisenaderlaßtier 17 erhielten wir während der Aderlaßperiode einen Gesamtwert von 6,6 g% mit 65,7% Albuminen, 6,3% Alpha-Globulinen, 12,8% Beta-Globulinen, 15,4% Gamma-Globulinen und am Ende des Versuches 6,1 g% mit 65,3% Albuminen, 15,6% Alpha- und Beta-Globulinen und 19,1% Gamma-Globulinen. Bei dem Eisenaderlaßtier 16 konnte bei einer Untersuchung während der Aderlaßperiode ebenfalls eine normale Zusammensetzung des Serumeiweißes festgestellt werden. Also auch bei diesem Tier wurde trotz des hohen Eiweißverlustes ein im wesentlichen normaler Eiweißwert aufrecht erhalten.

Die Ergebnisse dieser letzten Versuche können folgendermaßen zusammengefaßt werden: Bei Kaninchen, die eine bestimmte Eisenmenge i. v. erhalten hatten, konnte — im Vergleich zu Kontrolltieren — das in den Organen abgelagerte Eisen durch Aderlässe zunächst mobilisiert werden. Doch konnte auch mit lang-fortgesetzten Aderlaßserien keine völlige Mobilisierung des Eisens erreicht werden. Bei einem Tier, dessen Eisenverlust der vorher injizierten Eisendosis entsprach, enthielten zahlreiche Organe trotzdem noch größere Eisenmengen. Der bei diesem Tier für die Blutbildung nötige Eisenbedarf wurde durch Resorption aus dem Darm gedeckt.

e) Diskussion.

Betrachtet man unsere Versuchsergebnisse im Zusammenhang, dann kann festgestellt werden, daß sich bei verschiedenen Kaninchen aus der gleichen Familie recht erhebliche Unterschiede des roten Blutbildes zeigen können, daß aber Hämoglobin, Erythrocyten und Retikulocyten

beim gleichen Kaninchen über Monate ziemlich konstant bleiben. Kaninchen sind deshalb für hämatologische Untersuchungen durchaus geeignet. Allerdings ist dabei zu beachten, daß auch große und wiederholte Blutverluste außerordentlich schnell und voll regeneriert werden können. Eine Erschöpfung des Knochenmarkes konnte auch bei Blutentnahmen, die insgesamt das Mehrfache der Blutmenge betrugen, niemals beobachtet werden. Diese Leistung des Knochenmarkes ist aber nur möglich, wenn die zur Hämatopoese notwendigen Baustoffe in genügendem Maße aus der Nahrung aufgenommen werden können. Dabei spielt in erster Linie das Eisen eine Rolle. Es konnte nachgewiesen werden, daß die Eisenresorption dem Bedarf angepaßt wird. Die Regulation des Eisenstoffwechsels erfolgt also beim Kaninchen — ähnlich wie beim Menschen — durch eine vom Eisenhunger des Organismus abhängende Änderung der Resorptionsgröße. Ebenso wichtig wie eine genügende Eisenmenge ist es aber auch, daß kein Mangel an Eiweiß und sonstigen Stoffen (z. B. Vitaminen) eintritt. Tatsächlich konnte auch bei langdauernden Versuchen eine wesentliche Änderung der Serumeiweißzusammensetzung nicht beobachtet werden. Genau so bedeutungsvoll wie die ausreichende Bereitstellung der einzelnen Baustoffe ist aber die Möglichkeit einer Proliferationssteigerung des Knochenmarkes. Auch diese konnte — in Übereinstimmung mit zahlreichen Literaturangaben — histologisch nachgewiesen werden. Es kam dabei im Knochenmark fast zu einer Umkehr des Verhältnisses zwischen Fettlücken und Parenchym. Die bei den Aderlaßtieren zu beobachtende dauernde Retikulocytensteigerung darf ebenfalls als Ausdruck der gesteigerten Aktivität angesehen werden. Da die Regenerationsgeschwindigkeit bei allen Aderlaßtieren, gleichgültig ob sie vorher Eisen erhalten hatten oder nicht, ungefähr gleich war, und ein Eiweiß- oder Eisenmangel bei keinem Tier nachgewiesen werden konnte, sind wir der Ansicht, daß beim Kaninchen, das häufigen Aderlässen unterworfen ist, im wesentlichen die Proliferationsfähigkeit des Knochenmarkes, die keine beliebige Steigerung erlaubt, daß Maß der möglichen Regeneration und damit das Maß der Anämie bestimmt.

Unsere Versuche bestätigten weiter die ausgezeichnete Verträglichkeit des Ferri-Saccharates. Die intravenösen Injektionen wurden beim Kaninchen auch in relativ hohen Dosen sehr gut vertragen. Vergiftungen traten erst bei der sehr hohen Dosis von 457 mg/kg auf. Eine Schädigung der Tiere konnte bei mittlerer Dosis auch monatelang nach der Eiseninjektion nicht festgestellt werden. Eine Änderung des Blutbildes war nach den Eisengaben nicht zu verzeichnen. Der Serumeisenspiegel, der zunächst anstieg, normalisierte sich sehr schnell nach den Injektionen.

Die Ablagerung des Eisens war bei der im allgemeinen gewählten Dosis von 100 mg/kg und bei intravenöser Zufuhr von einer Ohrvene aus bei allen Tieren gleich und entsprach im wesentlichen den schon lange

bekannten Befunden. Besonders reichlich fand sich das Eisen — wie erwartet — im RES von Leber, Milz und Knochenmark, also in den Organen, die schon normalerweise am endogenen Eisenstoffwechsel beteiligt sind. Die übrigen Organe nahmen in einem sehr viel geringeren Maße an der Eisenspeicherung teil. Man darf wohl vermuten, daß erst nach Überfüllung der „primären Eisenreceptoren" (Leber, Milz und Knochenmark) das Eisen auch in den „sekundären Eisenreceptoren" erscheint. Dabei wird das Ausmaß der hier möglichen Eisenspeicherung wohl in erster Linie von der Aktivierung des Mesenchyms im Sinne von Siegmund abhängen, d. h. von der Fähigkeit des Organismus ruhende Bindegewebszellen zur aktiven Speicherung heranzuziehen. Frei von histochemisch nachweisbarem Eisen blieben nur Magen, Gehirn und Pankreas.

Dieser Befund bestätigt die Angaben von Polson und Cappel. Auch diese Autoren konnten bei ihren z. T. sehr lang-dauernden Kaninchenversuchen in den Pankreaszellen niemals Eisen nachweisen. Das bedeutet natürlich nicht, daß diese Organe, insbesondere das am meisten interessierende Pankreas, eisenfrei waren; denn die histo-chemischen Methoden zeigen den Eisengehalt des Gewebes nur sehr unvollkommen an und erfassen außerdem — darauf wurde schon hingewiesen — das Ferritin überhaupt nicht. Doch kann mit Sicherheit gesagt werden, daß in Organen, die keine größeren Hämosiderinmengen enthalten, auch das Ferritin nicht wesentlich über das physiologische Maß hinaus vermehrt sein kann. Das Pankreas spielt demnach als Speicherungsort für Eisen zumindest beim Kaninchen sicher eine besonders geringe Rolle.

Das intravenös gegebene Eisen konnte in den Organen in Form von ausgedehnten Hämosiderinablagerungen, die schon in ungefärbten Schnitten gut zu erkennen waren, wiedergefunden werden. Es ist ohne weiteres anzunehmen, daß außerdem auch Eisen als unsichtbares Ferritin in den Organen vorhanden war. Die Frage der Mobilisierbarkeit dieser übermäßigen Eisenablagerungen ist bisher kaum bearbeitet worden. Da es seit den Versuchen von Bagniard und Whipple bekannt ist, daß sich bei Hunden die normale Hämosiderinmenge in den Organen nach Aderlässen vermindert, mit anderen Worten also das Hämosiderin, das eine granuläre Speicherform des Eisens darstellt, von der Zellen wieder in eine lösliche Form umgewandelt werden kann, wurde auch bei unseren mit Eisen behandelten Tieren versucht, durch laufende Aderlässe die Organe von ihrem Eisenüberfluß zu befreien, d. h. das hier liegende Eisen für die Hämoglobinsynthese zu mobilisieren. Das führte zunächst tatsächlich zu einer chemisch und histologisch nachweisbaren Verminderung der Organeisenmengen. Die grundsätzliche Verwertbarkeit des injizierten dreiwertigen Eisens für die Blutbildung ist damit erwiesen. Die Reihenfolge, in der die Organe unter den Aderlässen ihr Eisen abgeben, ist nicht uninteressant. Es scheint dabei kein Zufall zu sein, daß gerade das am Verbrauchsort, also im Knochenmark gespeicherte Eisen besonders frühzeitig und weitgehend verschwand. Auf diesen Befund kommen wir noch

einmal zurück. Relativ schnell gaben im allgemeinen auch die „sekundären Receptoren" das Eisen wieder ab. Dagegen hielt es sich lange in Milz und Leber. Bemerkenswert ist dabei die Tatsache, daß das Eisen aus den Sternzellen leichter abgegeben wurde als aus den Leberparenchymzellen. Das wichtigste Ergebnis unserer Versuche ist aber die Beobachtung, daß es auch durch lange fortgesetzte Aderlässe, mit denen bei einem Tier mindestens ebensoviel Eisen entzogen wurde wie vorher injiziert worden war, nicht gelang, eine völlige Befreiung der Organe von ihren Eisenstapeln zu erreichen. Besonders in Leber und Milz ließen sich dabei noch größere Eisendepots nachweisen. Diese Tatsache ließ sich histologisch, chemisch und mit der makroskopischen Berliner-Blau-Reaktion beweisen.

In der folgenden Tabelle (Tab. 8) wurde berechnet, wieviel Prozent des injizierten Eisens in Leber, Milz und Nieren bei den einzelnen Tiergruppen wiedergefunden wurden. Die große Bedeutung von Leber und Milz, die alleine schon etwa 50% der injizierten Menge speichern, geht gerade aus dieser Gegenüberstellung sehr deutlich hervor.

Tabelle 8.

Berechnung der wiedergefundenen Eisenmenge in Prozent der injizierten Menge.

Nr.	Gew. kg	Injizierte Fe-Menge pro kg/Kö. gew.	Injizierte Fe-Menge mg	Eisenwert der Leber nach Abzug des Normwertes mg	% der injizierten Fe-Menge	Eisenwert der Milz nach Abzug des Normwertes mg	% der injizierten Fe-Menge	Eisenwert der Nieren nach Abzug des Normwertes mg	% der injizierten Fe-Menge	Eisenwert von Leber + Milz + Nieren nach Abzug des Normwertes mg	% der injizierten Fe-menge
13	3,4	100	340	153,12	45,03	18,47	5,43	6,08	1,78	177,67	52,24
15	3,3	100	330	169,56	51,38	5,08	1,53	6,04	1,83	180,68	54,74
12	3,05	100	310	168,90	54,48	7,91	2,55	5,16	1,66	181,97	58,69
11	4,0	100	400	183,80	45,95	15,25	3,81	5,48	1,37	204,53	51,13
127	4,3	100	430	317,30	72,62	16,86	3,92	12,76	2,96	346,92	79,50
14	2,9	100	290	105,45	36,36	3,73	1,98	2,18	0,75	111,36	38,39
16	3,4	100	340	74,10	21,79	2,17	0,63	2,12	0,62	78,39	23,04
17	4,6	100	460	70,80	15,40	2,42	0,52	1,04	0,22	74,26	16,14

Wie die Zahlen in dieser Tabelle für die Tiere 14, 16 und 17 zeigen, geht die Eisenmenge im Vergleich zu den Kontrolltieren in den einzelnen Organen zunächst unter den Aderlässen tatsächlich zurück. Auch bei dem Tier Nr. 16 ist eine weitere Abnahme zu verzeichnen. Bei dem Tier Nr. 17 liegen dagegen die Eisenwerte kaum niedriger als bei Tier 16.

Unsere Befunde erinnern stark an den schon erwähnten Hund von Finch und Mitarb., bei dem es trotz einer vorhergehenden Eiseninjektion

unter Aderlässen schließlich zu einer Hemmung der Blutneubildung mit Anämie kam, obschon bei der Autopsie noch reichlich Eisen in den Organen vorhanden war. Der Unterschied ist nur der, daß das Kaninchen 17 keine Dauer-Anämie bekam. Diese Tatsache läßt sich aber dadurch leicht erklären, daß das Tier — genau wie die reinen Aderlaßtiere — die notwendige Eisenmenge aus dem Darm resorbieren konnte. Daß Eisen resorbiert wurde, beweist die ungestörte Erythropoese und unter Berücksichtigung der Versuchsbedingungen auch das histologische Bild der Duodenalschleimhaut. Der Eisenreichtum der Schleimhaut entsprach im histologischen Bild völlig dem der Duodenalschleimhaut der Kaninchen, bei denen nur Aderlässe gemacht worden waren und übertrifft sowohl die normale Schleimhaut als auch die Schleimhaut der Tiere, die Eisen injiziert bekommen hatten.

Wie ist dieser Befund, der im Widerspruch steht zu der allgemeinen Auffassung, daß das Hämosiderin eine physiologische Speicherform des Eisens sei, zu verstehen? Finch und Mitarb. sind der Meinung, daß Eisen von der Zelle dann nicht mehr mobilisiert werden kann, wenn es in ihr in einem solchen Maße angereichert ist, daß es die Zellfunktion stört oder die Zelle zerstört. Mit anderen Worten haben sie die Auffassung, daß die Zelle bei unbegrenztem Eisenangebot durch schrankenlose Aufnahme schließlich sich selbst vernichtet. Wir haben bei unseren Untersuchungen niemals Zellnekrosen gesehen und möchten daher eher das Hämosiderin selbst für den beobachteten mangelhaften Abbau verantwortlich machen und haben die Vorstellung, daß in dem uneinheitlichen Hämosiderin-Komplex unter Umständen Fraktionen entstehen können, die nicht mehr löslich sind. Nach der heutigen Auffassung ist das Hämosiderin schon an sich schwerer löslich als das Ferritin, das als physiologische Speicherform des Eisens ganz in den Mittelpunkt gerückt worden ist. Das Hämosiderin soll durch Agglomeration nur dann aus dem Ferritin entstehen, wenn über die normale Kapazität des Gewebes hinaus Eisen zugeführt wird. Auch die Tatsache, daß bei unseren Normaltieren trotz großer laufender Aderlässe in den Organen nicht nur chemisch sondern auch histologisch nachweisbares Eisen vorhanden war, legt den Gedanken an eine unlösliche Hämosiderinfraktion nahe. Vielleicht darf in diesem Zusammenhang auch eine interessante Beobachtung vom M. B. Schmidt erwähnt werden, daß Hämosiderinablagerungen in der Synovialmembran von Hämophilen auch nach großen Blutverlusten, die zu einer Eisenverminderung in den Depots führten, nicht abgebaut wurden.

Eine chemische Untersuchung dieser angenommenen unlöslichen Hämosiderinfraktion war uns leider nicht möglich. Doch können wir hier auf die interessanten Untersuchungen von Schwietzer zurückgreifen, der — unabhängig von uns und auf ganz anderem Wege — zum gleichen Ergebnis kam. Er entwickelte unter Berücksichtigung der Theorie von Granick und den Untersuchungen von

Behrens u. Asher über den unterschiedlichen Eisengehalt verschiedener Hämosiderinfraktionen die Anschauung, daß ein fließender Übergang vom Ferritin zum Hämosiderin besteht und daß sich mit steigendem Eisengehalt die Löslichkeit der Verbindung vermindert. Dabei soll das Eisen im Ferritin als Sol vorliegen und in bestimmten Hämosiderinfraktionen schließlich als irreversibles Gel. Dem Apoferritin soll dabei im Körper die Funktion eines Schutzkolloids zukommen, mit der Aufgabe, die Bildung des Hämosiderin aus Ferritin zu verhindern. Fehlt das Apoferritin oder kann es bei einer Eiweißmangelsituation nicht gebildet werden, bzw. wird es dabei abgebaut, dann entstehen aus dem Ferritin die verschiedenen Hämosiderinfraktionen. Diese gaben nun z. T. das charakteristische Röntgendiagramm des völlig unlöslichen Minerals Goethit.

Wir kommen damit unter Zugrundelegung dieser Untersuchungen zu der Auffassung, daß die unseren Tieren injizierte relativ große Eisenmenge nur zu einem Teil als Ferritin bzw. noch löslichem Hämosiderin gespeichert werden konnte und zum Teil sofort als unlösliche Hämosiderinfraktion, die vielleicht dem Goethit entspricht, abgelagert wurde. Diese Hämosiderinfraktion war dann später nicht mehr zu mobilisieren. Darüber hinaus ist es dann auch noch möglich, daß im Laufe der Aderlaßserien zur Aufrechterhaltung des Serumeiweißwertes ein Teil des Apoferritins eingeschmolzen wurde und so dann wieder unlösliches Hämosiderin entstand. Auf die Konsequenzen für die therapeutische Anwendung dreiwertiger Eisenpräparate beim Menschen wird noch eingegangen.

Im Gegensatz zu unseren Befunden fand Remy bei seinen Kaninchen eine rasche Entspeicherung der histo-chemischen Eisenablagerungen nach Aderlässen. Wir glauben, die von unseren Befunden abweichenden Ergebnisse von Remy dadurch leicht erklären zu können, daß er das Eisen sehr viel niedriger dosierte als wir. Es ist denkbar, daß dabei nur wenig oder gar kein unlösliches Hämosiderin entstanden ist. Im übrigen wurden die Organe nur histo-chemisch untersucht.

Eine kurze Besprechung verdienen auch die Beziehungen der chronischen Eisenspeicherung zur Hämochromatose. Wir können zunächst feststellen, daß sich in der Art und im Ausmaß der Eisenablagerung in der uns möglichen Beobachtungszeit bis zu 156 Tagen bei unseren Tieren nur sehr wenig änderte. Das Bemerkenswerteste war der schon bekannte Befund einer zunehmenden Speicherung in den Parenchymzellen der Leber. In den übrigen Organen war das histologische Bild der akuten und chronischen Speicherung nicht zu unterscheiden. Dies ist zweifellos auch als ein morphologischer Beweis für die selbst nach großer Zufuhr minimale Eisenausscheidung anzusehen. Das wichtigste Ergebnis ist aber die Tatsache, daß weder im akuten noch chronischen Speicherungsversuch eine morphologisch faßbare Organschädigung, insbesondere keine cirrhotischen Veränderungen, beobachtet werden konnte. Diese Ergebnisse stimmen mit den Angaben von Studer und Andersson und den älteren Angaben von Cappel, Polson, Rous und Oliver überein. Wenn man dazu noch das geradezu eisenfeindliche Verhalten des Pankreas und die immer vorhandene Speicherung in den Nieren, die bei der Hämochromatose ausgesprochen selten ist, und die Tatsache, daß bei der Hämochromatose das Eisen vorwiegend in den Parenchymzellen und nicht, wie bei unseren

Tieren, im RES abgelagert ist, hinzunimmt, dann hat das Bild der ekzessiven Eisenspeicherung kaum etwas gemeinsam mit dem der Hämochromatose. Ob nun eine starke arteficielle Eisenspeicherung auf die Dauer zu einer echten Hämochromatose mit cirrhotischen Veränderungen in Leber und Pankreas und mit einem Diabetes werden kann, wobei dann die Hämochromatose gewissermaßen eine sekundäre Krankheit wäre, können wir auf Grund unserer Befunde nicht entscheiden. Bei den „exogenen Hämochromatosen" nach zahlreichen Bluttransfusionen (Kark, Bomford u. Roads, Mac Kay, Zeltmacher u. Bevans, Humphreys u. Southworth, Yates u. Thalhimer, Wyatt u. Goldenberg, Schwartz u. Blumenthal, Muirhead u. Mitarb., Brown u. Mitarb.), bei denen selten cirrhotische Veränderungen und auch ein Diabetes vorkommen können, liegen die Verhältnisse doch zweifellos anders als bei unseren Versuchstieren, da diese Patienten ein Grundleiden hatten (aplastische Anämie, chron. Leukämie o. ä.), das bei der Betrachtung mit in Rechnung gestellt werden muß. Wir sind deshalb völlig der Ansicht von Wenderoth, daß der Ausdruck „Hämochromatose" oder auch „exogene Hämochromatose" für die arteficiell (i. v. verabreichtes Eisen, Bluttransfusionen) herbeigeführte Eisenüberschwemmung des Organismus besser vermieden wird. Man kann hier allenfalls von einer „arteficiellen Hämosiderose" sprechen, wobei aber das Wort *Hämo*siderose — wie z. B. bei unseren Tieren — nicht immer ganz korrekt ist, aber aus historischen Gründen wohl beibehalten werden muß.

Unsere Bobachtungen erlauben es auch, einige Bemerkungen zu der in der letzten Zeit umstrittenen (Wenderoth, Masshoff und Gruner) interessanten Frage nach der Bedeutung des Knochenmarkeisens zu machen. M. B. Schmidt hat wohl zuerst auf die Tatsache hingewiesen, daß sich im menschlichen Knochenmark ziemlich konstant histochemisch nachweisbares Eisen findet. Im Experiment konnte er dann einen Schwund dieses Eisens im Verlauf einer durch Blutentziehung angeregten Blutneubildung sehen. Daß sich auch das im Übermaß im Knochenmark gespeicherte Eisen so verhält, haben unsere Versuche gezeigt.

Neuerdings haben nun Rath u. Finch versucht, aus dem mit der Berliner-Blau-Reaktion nachgewiesenem Eisengehalt des intravital gewonnenen Knochenmarkes auf einen evtl. vorhandenen Eisenmangel des Organismus zu schließen und daraus therapeutische Konsequenzen zu ziehen. Sie fanden bei Gesunden wenig Eisen, bei Eisenmangelanämien keins und bei perniciöser Anämie, Infektanämie, Hämochromatose und nach multiplen Transfusionen reichlich Eisen. Diese Befunde wurden von Wenderoth, besonders hinsichtlich der Hämochromatose und der perniciösen Anämie bestätigt. Masshoff u. Gruner fanden dagegen keine Beziehungen zwischen dem histochemischen Eisengehalt des Knochenmarks und der Grundkrankheit. Sie vertreten daher die Ansicht, daß aus dem Maß des im Knochenmark vorhandenen Eisens keine therapeutischen Konsequenzen gezogen werden können und daß das granulär abgelagerte Depot-Eisen des Markes für die aktuelle Blutneubildung keine Rolle spielt.

Unsere Versuche zeigen dagegen eindeutig, daß selbst das im Übermaß im Knochenmark abgelagerte Eisen offenbar besonders leicht und schnell zur Blutneubildung herangezogen werden kann. Andererseits ist unseren Untersuchungen aber zu entnehmen, daß der Eisengehalt des Knochenmarkes nicht unbedingt den Gesamtdepoteisenbestand anzuzeigen braucht, da bei unseren Eisenaderlaßtieren nach schnellem

Abbau des Knochenmarkseisens noch reichliche Eisenmengen in den anderen Depots lagerten. Es scheint, als ob das Eisen, das im Knochenmark, also am Verbrauchsort abgelagert ist, gegenüber den übrigen Depots eine gewisse Selbständigkeit besitzt. Man wird aus dem Eisengehalt des Knochenmarks unseres Erachtens nur unter Berücksichtigung aller übrigen klinischen Befunde diagnostische und therapeutische Konsequenzen ziehen dürfen. Vielleicht könnte man sich mit Hilfe des Eisennachweises im Sternalpunktat in Kombination mit dem Eisennachweis im Leberpunktat (Schmidt, Banche und Cugnasco) einen besseren Überblick über den Eisenbestand des Organismus verschaffen.

Welche Konsequenzen ergeben sich nun aus unseren Versuchen für das praktisch therapeutische Handeln mit Eisenpräparaten? Durch zahlreiche klinische Arbeiten und auch durch unsere Experimente ist die Wirksamkeit der intravenösen Eisentherapie bei Eisenmangelanämien absolut gesichert. Nicht nur die Anämie, sondern auch die allgemeinen Folgen des Eisenmangels (Adynamie, Rhagaden, Schluckbeschwerden usw.) können mit dieser Therapie beseitigt werden. Die Auffassung von der alleinigen biologischen Wirksamkeit des zweiwertigen Eisens ist damit sicher widerlegt. Allerdings ist es wegen der Resorptionsverhältnisse im Magen-Darm-Kanal notwendig, das dreiwertige Eisen — im Gegensatz zum zweiwertigen — parenteral zuzuführen. Dabei wird das injizierte Eisen auch beim Menschen zunächst im RES abgelagert, wo es z. B. durch Leberbiopsien (Finch und Mitarb., Holly) nachgewiesen werden konnte. Hier wird es in Ferritin bzw. Hämosiderin umgebaut und je nach Bedarf an das Knochenmark abgegeben. Die Wirkung erfolgt also über eine Depot-Fixation (Goldeck und Remy). Bei der Therapie muß aber daran gedacht werden, daß das i. v. zugeführte Eisen nach unseren Versuchen im Körper unter Umständen in eine nicht mehr lösliche und dann natürlich therapeutisch unwirksame Hämosiderinfraktion umgewandelt werden kann. Dieser Vorgang dürfte sich wahrscheinlich besonders stark bei schneller Zufuhr hoher Eisendosen abspielen. Ob diese unlöslichen Hämosiderinfraktionen auf die Dauer den Organismus schädigen, können wir auf Grund unserer Versuche nicht entscheiden. Jedenfalls stellt eine stärkere Hämosiderose der Organe einen unphysiologischen Zustand dar, den man unseres Erachtens vermeiden sollte. Wenn auch die Frage nach einer Schädigung durch Eisen noch keine endgültige Beantwortung erfahren hat, so halten wir es im Interesse des Patienten und im Interesse einer exakten Therapie doch für richtig, die therapeutische Anwendung von Ferri-Salzen auf echte Eisenmangelzustände zu beschränken und bei der Anwendung die Gesamtdosis nach dem errechneten Eisendefizit zu richten. Als Einzeldosis sollten dabei 100—200 mg Eisen nicht überschritten werden. Die

notwendige Gesamtmenge läßt sich überschlagsmäßig leicht berechnen, wenn man davon ausgeht, daß im allgemeinen 25 mg Eisen für einen Hämoglobinzuwachs von 0,16 g% benötigt werden.

Zusammenfassung.

1. Bei Aderlaßversuchen mit normalen Kaninchen konnte die außerordentlich große Regenerationsfähigkeit des Knochenmarkes demonstriert werden. Durch histologische Untersuchungen und Serumeisenbestimmungen wurde nachgewiesen, daß die zur Blutbildung benötigten Eisenmengen — entsprechend dem Bedarf — aus dem Darm resorbiert wurden. Trotz langdauernder Blutentnahmen wurden Milz und Leber nicht völlig eisenfrei.

2. Nach intravenöser Zufuhr von dreiwertigem Eisen fand sich eine besonders starke Speicherung in Leber, Milz und Knochenmark. Darüber hinaus nahmen aber auch fast alle anderen Organe — außer Pankreas, Magen und Gehirn — an der Speicherung teil. Das Eisen lag dabei teilweise als Hämosiderin und — wie angenommen werden darf — teilweise als Ferritin vor. Eine Schädigung der Tiere (Lähmungen) trat im akuten Versuch erst bei sehr hoher Dosierung ein. Bei mittlerer Dosierung konnte klinisch und histologisch keine Organschädigung festgestellt werden.

3. Versuche, das nach der Injektion in den Organen abgelagerte Eisen durch Aderlässe für die Hämoglobinbildung zu mobilisieren, hatte nur teilweise Erfolg; d. h. es konnte bei diesen Tieren zunächst — entsprechend dem vermehrten Verbrauch im Knochenmark — ein Rückgang des gespeicherten Eisens erreicht werden. Grundsätzlich ist damit erwiesen, daß injiziertes dreiwertiges Eisen für den Hämoglobinaufbau herangezogen werden kann. Doch blieb auch lange nach fortgesetzten Aderlässen, die einen Eisenverlust darstellten, der mindestens der injizierten Eisenmenge entsprach, noch reichlich Eisen in den Organen nachweisbar. Das zur Blutbildung benötigte Eisen wurde dabei — wie histologisch wahrscheinlich gemacht werden konnte — aus dem Darm resorbiert und nicht den Depots entnommen. Diese Beobachtung steht im Widerspruch zu der Auffassung, daß das Hämosiderin eine jederzeit mobilisierbare Speicherform des Eisens darstellt. Als Erklärung dieser Tatsache wurde die Vorstellung entwickelt, daß es im Körper unter Umständen zur Bildung einer nicht mehr mobilisierbaren Hämosiderinfraktion kommen kann. Diese Vorstellung erhält eine Stütze durch die Untersuchungen von Schwietzer, der nachwies, daß ein Teil des von ihm untersuchten Hämosiderins chemisch mit Goethit, einem eisenhaltigen, unlöslichen Mineral identisch war. Wahrscheinlich wird die Entstehung der unlöslichen Hämosiderinfraktionen durch die schnelle Zufuhr größerer Eisenmengen, wie sie bei Anwendung von Eisenkomplexsalzen möglich ist, gefördert.

Es wurde darauf hingewiesen, daß auch eine ekzessive Eisenspeicherung zunächst nichts mit einer Hämochromatose zu tun hat. Cirrhotische Organveränderungen wurden vermißt. Über den Endausgang chronischer Eisenspeicherungen läßt sich zur Zeit noch nichts aussagen.

4. Für das therapeutische Handeln wird vorgeschlagen, die Anwendung von Ferri-Präparaten auf sichere Eisenmangelzustände zu beschränken. Als Einzeldosis sollten 100—200 mg nicht überschritten werden. Die Gesamtdosis soll sich nach dem vorhandenen Eisendefizit richten.

Literatur.

Adlersberg u. Gottsegen: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **142**, 323 (1929). — Agener, K., N. S. E. Andersson u. N. Nordenson: Acta haemat. (Basel) **1**, 194 (1948). — Altschäffl: zit. nach Cremer. — Andersson, N. S. E.: Acta med. scand. (Stockh.) **1950**, Suppl. 251. — Bagniard, R. P., and G. H. Whipple: J. of Exper. Med. **55**, 653 (1932). — Banche, M., e L. Cugnasco: 3. Congr. internat. europ. de la Soc. d'Hematologie. Rom 1951. — Behrens u. Asher: Z. physiol. Chem. **220**, 97 (1933). — Beilicke, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **189**, 298 (1938). — v. Bidder, H., u. E. Undritz: Helvet. physiol. pharmacol. acta **6**, 765 (1948). — Boerner-Patzelt, D.: Arch. mikrosk. Anat. u. Entw. mechan. **102**, 184 (1924). — Bomford, R. R., and C. R. Rhoads: Quart. J. Med. **10**, 175, 235 (1941). — Brown, E. B., C. V. Moore, C. Reynafarje and D. E. Smith: J. Amer. Med. Assoc. **144**, 1084 (1950). — Büchmann, P.: Med. Klin. **1950**, 849. — Dtsch. med. Wschr. **1951**, 921. — Büchmann, P., u. Rabenschlag: Dtsch. med. Wschr. **1950**, 233. — Cappel, D. F.: J. of Path. **33**, 175 (1930). — Cohen, H.: Practitioner **161**, 233 (1948). — Cremer, J.: Z. exper. Med. **107**, 467 (1940). — Crohnheim: zit. nach Starkenstein. — Dameshek, W.: Blood **5**, 1167 (1950). — Davidson, L. S. P., and R. H. Girwood: Brit. Med. J. **1948/I**, 733. — Dieckmann, B.: Z. dtsch. Ges.wesen **1951**, 1253. Dittrich, H.: Wien. med. Wschr. **1951**, 693. — Douglas: zit. nach Sjövall. — Engel, M.: Schweiz. med. Wschr. **1946**, 1079. — Eppinger, H.: Die Leberkrankheit. Berlin 1937. — Eppinger, H., u. F. Stöhr: Klin. Wschr. **1922/II**, 1543. — Feser, A.: Dtsch. med. Wschr. **1952**, 84. — Fierz, F.: Praxis **39**, 469 (1950). — Finch, C. A., M. Hegsted, T. D. Kinney, E. D. Thomas, Ch. E. Rath, D. Haskins, St. Finch and R. G. Fluharty: Blood **5**, 983 (1950). Frank (1845): zit. nach Hoffmann. — French, D. G.: Lancet **1949/I**, 370. — Fuhrmann, G., u. H. Barkemeyer: Z. inn. Med. (Leipzig) **1947**, 458. — Fürth, O., and R. Scholl: Pharmacol. a. Exp. Therap. **58**, 14 (1936). — Gaule: Dtsch. med. Wschr. **1896**, Nr. 19 u. Nr. 24. — Gerbrandy, I.: Nederl. Tijdschr. Geneesk. **93**, 4029 (1949). — Goetsch, A. T., C. V. Moore and V. Minnich: Blood **1**, 129 (1946). — Goldeck, H., u. D. Remy: Dtsch. med. Wschr. **1950**, 358. — Govan, A. D. T., and I. M. Scott: Lancet **1949**, 14. — Granick, S.: Science (Lancaster, Pa.) **103**, 107 (1946). — Bull. New York Acad. med. **25**, 403 (1949). — Granick, S., and P. F. Hahn: J. of Biol. Chem. **155**, 661 (1944). — Granick, S., and L. Michaelis: J. of Biol. Chem. **147**, 91 (1943). — Granrud u. Oester: Nord. med. Ark (schwed.) **43**, 11, 468 (1950). — Grimm, A.: Med. Welt **1951**, 1101. — Gsell, O.: Helvet. med. Acta **12**, 4/5 (1945). — Günther, H.: Münch. med. Wschr. **1951**, Nr. 21. — Haan: in Jaffè. — Hahn, P. F.: Feder. Proc. **7**, 493 (1948); zit. nach Andersson. — Hahn, P. F., and G. H. Whipple: Amer. J. Med. Sci. **191**, 24 (1936). — Hahn, P. F., W. F. Bale,

E. O. Lawrence and G. H. Whipple: J. of Exper. Med. 69, 739 (1939). — Hahn, P. F., W. F. Bale, R. A. Hettig, M. D. Kamen and G. H. Whipple: J. of Exper. Med. 70, 443 (1939). — Hahn, P. F., W. F. Bale, J. F. Ross, W. M. Balfour and G. H. Whipple: J. of Exper. Med. 78, 169 (1943). — Hahn, P. F., E. Jones, R. L. Lowe, G. Mennely and W. Peacock: Amer. J. Physiol. 143, 191 (1945). — Hall: Arch. f. Anat., Phys. Abt. 6 und 9, 1894; zit. nach Tartakowski. — Hawkins, C. F., A. L. P. Peeney and W. T. Cooke: Lancet 1950, 387. — Heilmeyer, L.: Die Eisentherapie und ihre Grundlage. 2. Aufl. Leipzig 1944. — Dtsch. med. Wschr. 1950, 1086. — Heilmeyer, L., u. K. Plötner: Das Serumeisen und die Eisenmangelkrankheit. Jena 1937. — Heilmeyer, L., u. H. Koch: Dtsch. Arch. klin. Med. 185, 89 (1939). — Heilmeyer, L., Stüwe u. Keiderling: Kupfer und Eisen als körpereigene Wirkstoffe. Jena 1941. — Heilmeyer, L., u. v. Mutius: Z. exper. Med. 112, 192 (1945). — Heilmeyer, L., u. Begemann: Hdb. inn. Med., Bd. II, Blutkrankheiten. Springer 1951. — Hemmeler, C.: Metabolisme du Fer. Paris 1951. — Acta med. scand. (Stockh.) 1949, 364. — Henriques, V., u. H. Okkels: Biochem. Z. 210, 198 (1929). — Z. Zellforschg 12, 155 (1930). — Hochhaus, A., u. H. Quinke: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 37, 159 (1896). — Hoffmann, A.: Virchows Arch. 160, 235 (1900). — Hoffmann, E., u. P. Moser: Ärztl. Wschr. 1950, 482. — Hofmann, M.: Virchows Arch. 151, 488 (1898). — Holly, R. G.: Blood 6, 1159 (1951). — Horrigan, D. L., J. F. Mueller and R. Vilter: J. Labor. a. Clin. Med. 36, 422 (1950). — Hueck, W.: Beitr. path. Anat. 54, 68 (1912). — Humphreys, G. H., and H. Southworth: Amer. J. Med. Sci. 210, 502 (1945). — Istomanova, T. S.: Z. exper. Med. 52, 140 (1926). — Jacobj, C.: Diss. Straßburg 1887; zit. nach Masshoff u. Gruner. — Jolly: zit. nach Sjövall. — Kahn: zit. nach Starkenstein. — Kanzow, U.: Dtsch. Arch. klin. Med. 198, 698 (1951). — Kark, R. M.: Guy's Hosp. Rep. 87, 343 (1937); zit. nach Schwartz u. Blumenthal. — Kartchner, F. G., and E. Holmstrom: Amer. J. Obstetr. 60, 1288 (1950). — Kawai, S.: Tohoku J. Exper. Med. 45, 153 (1943). — Key: zit. nach Haan. — Klineberger u. Carl: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere. 2. Aufl. Leipzig 1927. — Kölliker u. Müller (1855): zit. nach Hoffmann. — Kojima u. Loewy: zit. nach Starkenstein. — Krupp, F.: Münch. med. Wschr. 1951, 2013. — Lederer, J., M. Renaer et J. Vandenbroucke: Arch. internat. Pharmacodynamie 74, 253 (1947). — Leffkowitz, M. u. A.: Z. exper. Med. 48, 276 (1926). — Lindberg: Fol. haemat. (Lpz.) 9, 64 (1910). — Lindenbaum, J. S.: Fol. haemat. (Lpz.) 39, 501 (1930). — Lintzel, W.: Z. Biol. 87, 137 (1928); 89, 350 (1929). — Erg. Physiol. 31, 844 (1931). — Lipski, A.: Arb. a. d. pharmacol. Inst. Dorpat 9 (1892); zit. nach Tartakowski. — Lubarsch: zit. nach Starkenstein. — Looke, A., E. R. Main and D. C. Rosbach: J. of Clin. Invest. 11, 527 (1932). — Macalum: J. of Physiol. 16 (1894). — MacKey, R.: Med. J. Austral. 1, 172 (1942); zit. nach Schwartz u. Blumenthal. — Masshoff, W., u. P. Gruner: Acta haemat. 5, 19 (1951). — Menkins, V.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 31, 755 (1934). — Meyer u. Williams (1881); zit. nach Hoffmann. — Mimuro, K.: Trans. jap. path. Soc. 26 (1936); 27 (1937); zit. nach Cremer. — Moony, T. S.: Brit. Med. J. 1950/I, 1267. — Muirhaed, E., G. Grass, F. Jones and J. M. Hill: Arch. Int. Med. 83, 477 (1949). — Naegeli, O.: Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. Berlin 1931. — Neuweiler, W.: Therap. Umschau 1947, 11. — Nissen, R.: Z. exper. Med. 28, 29 (1922). — Nissim, J. A., and J. M. Robson: Lancet 1949/I, 686. — v. Norden: zit. nach Oerum. — Nordenson, N. W.: Sv. Läkartidn. 1947, 21. — Oerum, H. P. T.: Z. exper. Path. u. Ther. 3, 145 (1907). — Overkamp, H.: persönl. Mitt. — Pagliardi, E.: Settimana

med. (Firenze) **1949**, 484. — Pfeiffer, H., u. P. Standenath: Z. exper. Med. **37**, 184 (1923). — Polson, C. J.: J. of Path. **31**, 445 (1928); **32**, 247 (1929). — Brit. J. Exper. Path. **14**, 73 (1933). — Pribilla, W.: Med. Welt **1952**, 53. — Ramsey, A. S.: Brit. Med. J. **1950/I**, 1109. — Rath, C. E.: Med. Clin. N. Amer. **34**, 1779 (1950). — Rath, C. E., and C. A. Finch: J. Labor. a. Clin. Med. **33**, 81 (1948). — Robscheit-Robbins, F. B., and G. H. Whipple: Amer. J. Physiol. **134**, 263 (1941). — Romeis, B.: Mikroskopische Technik. 15. Aufl. München 1948. — Rothlin, E., u. K. Undritz: Verh. d. Schweiz. Naturforsch. Ges. Freiburg 1945, 202. — Schweiz. med. Wschr. **1947**, 58. — Helvet. med. Acta **13**, Panc. 3/4 (1946). — Atti del VII. Congr. della Soc. Ital. di Hematologia, Pavia 1947, 350. — Rous, P., and J. Oliver: J. of Exper. Med. **28**, 629 (1918). — Scott, J. M., and A. D. T. Govan: Lancet **1951**, I, 367. — Siegmund, H.: Retikuloendothel und aktives Mesenchym. Beihefte zur Med. Klin. 1927, Heft 1. — Silva, E.: Ref. Brasil. Med. **8**, 111 (1951). — Sjövall, H.: Acta path. scand. (Kobenh.) **1936**, Suppl. 2. — Slack, H. G. B., and J. F. Wilkinson: Lancet **1949**, I, 11. — Spatz, H.: Verh. path. Ges. 19. Tagg., 222. — Zbl. Path. **33**, 313. — Z. Neur. **77**, 261 (1922), — Münch. med. Wschr. **1942**, I, 1645. — Starkenstein, E.: Hb. der exp. Pharmacol. III/2, Berlin 1934. — Starkenstein, E., u. H. Weden: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **134**, 274 (1928). — Stender, E.: Arb. a. d. pharm. Inst. Dorpat **7** (1891). Zit. nach Tartakowski. — Strahm, A.: Münch. med. Wschr. **1951**, 2305. — Strahm, A., u. F. Walter: Zbl. Gynäk. **73**, 1011 (1951). — Studer, A.: Helvet. med. Acta. **15**, 252 (1948). — Schmidt, K.: Klin. Wschr. **1949**, 566. — Schmidt, M. B.: Erg. Path. **35**, 105 (1940). — Schreiber: Z. klin. Med. **106**, 183 (1927). — Schulten, H.: Med. Welt **1950**, Nr. 35. — Lehrbuch der klin. Hämatologie. 4. Aufl. Stuttgart 1948. — Schurig: Zit. nach Starkenstein. — Schwartz, S. O., and S. A. Blumenthal: Blood **3**, 617 (1948). — Schwietzer, C. H.: Arzneimittelforschg **1**, 72 (1951). — Dtsch. med. Wschr. **1952**, 17. — Tartakowski, S.: Arch. f. Physiol. **100**, 586 (1903); **101**, 423 (1904). — Thedering, F., u. R. Gross: Z. inn. Med. (Leipzig) **1949**, 634. — Thoenes, F., u. R. Aschaffenburg: Abh. Kinderheilk., Heft 35 (1934). — Thraen, B.: Med. Welt **1951**, 159. — Trousseau (1868): Zit. nach Starkenstein. — Turba, F., u. A. J. Enekel: Naturwiss. **37**, 93 (1950). — Vannotti, A., M. Glosuit u. A. Jacottet: Nouvelles acquisitions dans la domaine du métabolisme du Fer a l'aide d'un isotop radioactif. Beitr. zur Anwendung der Isotopentechnik in Biologie. Klinik und Therapie. Basel 1950. — Vilter, R. W. et al.: J. Labor. a. Clin. Med. **36**, 422 (1950). — Vosskühler, P.: Z. physiol. Chem. **257**, 217 (1939). — Wallbach, G.: Z. exper. Med. **75**, 353 (1931). — Erg. Path. **24** (1931). — Klin. Wschr. **1932**, 353. — Welker: Zit. nach Sjövall. — Wenderoth, H.: Z. klin. Med. **145**, 534 (1949). — Ärztl. Forschg. **1950**, I. 549. — Acta haemat. (Basel) **5**, 338 (1951). — Whipple, G. H.: Amer. J. Physiol. **76**, 693 (1926). — Whitby, L.: J. Roy. Inst. Publ. Health **1949**, 57. — Wyatt, J. P., u. H. Goldenberg: Arch. inn. Med. **83**, 67 (1949). — Yates, J. L., and W. Thalheimer: J. Amer. Med. Assoc. **87**, 2156 (1926). — Zeltmacher, K., and M. Bevans: Arch. Internat. Med. **75**, 395 (1945). — Ziegler, F. B.: Zbl. Path. **5**, 847 (1894).

Dr. Walther Pribilla, Med. Poliklinik der Universität Köln.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 539—549 (1953).

Aus der inneren Abteilung des Krankenhauses St. Josef, Koblenz-Ehrenbreitstein (leitender Arzt Dr. C. Bresgen).

Die perkutane und permuköse Wirksamkeit des Insulins in Verbindung mit Hyaluronidase im Tierversuch.

Von

Carl Bresgen.

(Eingegangen am 10. August 1952.)

Die orale Insulinbehandlung scheiterte bisher vor allem daran, daß das Insulin durch die Verdauungsfermente Pepsin und Tyrpsin zerstört wird und ferner, weil das Insulinmolekül zu groß ist, um von der Schleimhaut des Magen-Darmtraktes oder von der unverletzten Haut resorbiert zu werden. Als die enteralen Resorptionsversuche nicht zum Ziele führten, versuchte man insulinhaltige Salben percutan zur Resorption zu bringen. Man hat damit nur unsichere Resultate erzielt, die kritischen Nachprüfungen nicht standhielten. Auch die rectale, perlinguale, konjunktivale sowie vaginale Anwendung hat man mit ähnlichem negativen Erfolg versucht. Die ältere Literatur ist bei Grevenstück u. Laqueur ausführlich berücksichtigt.

1932 haben Wilkowitz u. Lennuweit percutane Resorptionsversuche mit Triäthanolamin, einem alkalisch reagierenden, organischen Lacklösungsmittel von sirupartiger Konsistenz unternommen und damit bei Menschen angeblich Blutzuckersenkungen erzielt.

1938 haben Lasch u. Schönbrunner eine neue Methode veröffentlicht. Sie haben an der isolierten Dünndarmschlinge der Ratte Insulinresorptionsversuche angestellt mit positivem Ergebnis, besonders dann, wenn Insulin mit antifermentativen und resorptionsfördernden Stoffen (Saponinen u. ä.) zusammen in den Darm gebracht wurde. Vor allem konnten sie feststellen, daß organische, saure, elektronegative Farbstoffe Insulin in vitro vollkommen gegen seine Inaktivierung gegen Pepsin schützen, und daß basischen, elektropositiven Farbstoffen diese Wirkung fehlt. Sie berichten über blutzuckersenkende Wirkung von Tabletten, die Trockeninsulin, Saponin, Trypanrot und Malachitgrün in bestimmtem Verhältnis enthielten. Schönbrunner u. Lasch glauben aber, daß der beträchtliche Verlust an Insulinwirksamkeit, der trotzdem besteht, mit Sicherheit in dem großen Molekül des Insulins zu suchen ist.

1950 berichtet Lasch nach neuen Versuchen mit Insulin-Ultrafiltraten, daß der durch Ultrafilter hindurchgehende, als resorbierbar anzusehende Anteil der Handelsinsuline etwa 10—20% betrüge, und daß dieser Anteil angeblich auch bei peroraler Verabreichung, auch ohne Beigabe resorptionsfördernder Substanzen, bei Tier und Mensch durch die Darmwand durchgehe und blutzuckersenkend wirke. Dabei werden diese Ultrafiltrate angeblich vom Dünndarm aus ohne weiteres rasch resorbiert, müssen aber bei peroraler Verabreichung durch Beigabe antifermentativer Substanzen — z. B. bestimmter organischer Farbstoffe — vor der Inaktivierung durch Pepsin und Trypsin geschützt werden. Bei Verwendung von ungereinigtem Trockeninsulin liegt der resorbierbare Anteil des Insulins angeblich

noch höher. Die Versuche von Lasch u. Schönbrunner sind meines Wissens bisher von anderer Seite noch nicht aufgegriffen worden und bedürfen noch der Nachprüfung. Sie haben aber auf jeden Fall auch den Nachteil der Unwirtschaftlichkeit, da doch nur geringe Insulinmengen anscheinend zur Resorption kommen. Alle älteren Versuche, besonders mit Saponinen u. ä. sind gescheitert, oder es wurde eben durch das resorptionsfördernde Mittel ein Entzündungsreiz gesetzt, wodurch die Methode für eine Dauerbehandlung des Diabetes von vornherein unbrauchbar war. Hanzlik u. Cuthing (zit. nach Boller) behaupten, daß die Resorption von Insulin in abgebundenen Darmschlingen und im Rectum des Kaninchens gelingt, wenn die Oberflächenspannung der Schleimhaut herabgesetzt wird. Mit Alkohol, Adstringentin, Protoplasmagiften, Antisepticis und Saponinen haben sie lediglich eine Reizwirkung auf die Darmschleimhaut, aber keine Resorption erreicht. Im Chinin glauben sie aber einen Körper gefunden zu haben, der es möglich macht, eine Insulinresorption zu erreichen.

Boller schreibt, daß er die Angaben von Hanzlik u. Cuthing nicht bestätigen kann. Er hat dann versucht, das Insulinmolekül auf fermentativem Wege zu spalten. Er schreibt, daß ein auf ein Viertel seines Molekulargewichtes (ca. 12000) abgebautes Insulin, das selbst keine blutzuckersenkende Wirkung besitzt, durch chemische Prozesse zu einem wirksamen Körper umgewandelt werden kann, der bei Kaninchen per injektionem einen Einfluß auf den Blutzucker ausübt. „Alle Versuche, dieses Spaltprodukt nasal, lingual, vaginal oder rectal zur Wirkung zu bringen, sind fehlgeschlagen." Kleinere Spaltprodukte des Insulins seien auch subcutan unwirksam. Auch die Versuche mit rectaler Applikation in Form von Insulinsuppositorien, die Wuhrmann 1939 mitgeteilt hat, sind von Boller nachgeprüft und wegen ihrer Erfolglosigkeit aufgegeben worden.

Das Eiweiß des Spermas dürfte das einzige Eiweiß überhaupt sein, das von der unverletzten menschlichen Haut und Schleimhaut (z. B. Fornix vaginae) resorbiert wird. Wegen dieser Eigenschaft des Spermas habe ich schon vor Jahren einzelne Versuche unternommen, eine percutane Insulinresorption mit Sperma als Vehikelsubstanz zu erzielen und dabei auch eindeutige Blutzuckersenkungen bei Gesunden und Diabetikern verzeichnen können. Wenn auch theoretisch damit eine Möglichkeit der percutanen Insulinapplikation gegeben war, so konnte es sich natürlich nur um vereinzelte Versuche handeln, die aus verständlichen Gründen nicht für eine praktische Auswirkung in Frage kamen. Näher treten konnte man erst der Frage, ob dieser Beobachtung eine praktische Bedeutung zukomme, als das Ferment Hyaluronidase entdeckt und auch uns in Deutschland zugängig gemacht wurde. 1939 erkannten Chain u. Duthie, daß der 1928 von Duran-Reynals entdeckte „Spreading Faktor" mit dem Ferment- bzw. Fermentkomplex-Hyaluronidase identisch ist. Es zeigte sich nun, daß es sich bei dem diffusionsfördernden Faktor im Sperma um Hyaluronidase handelte, die im Sperma in besonders großer Menge vorkommt. Es war somit naheliegend anzunehmen, daß die Fähigkeit des Spermas, durch die menschliche Haut zu diffundieren, auf seinem hohen Gehalt an Hyaluronidase beruht. Da die Hyaluronsäure und die Chondroitinschwefelsäure in größerer Konzentration vor allem auch in der Haut gefunden werden, ist anzunehmen, daß auch die

Haut durch Einwirkung von Hyaluronidase diffundierbar gemacht werden kann für Materialien, die unter normalen Umständen die Haut nicht zu durchdringen vermögen.

In der Tat zeigt es sich auch, daß eine Hyaluronidaselösung relativ schnell von der unverletzten Haut resorbiert wird, wohingegen eine nicht hyaluronidasehaltige Vergleichslösung, etwa physiologische Kochsalzlösung, auf der Haut bis zur Verdunstung verbleibt. Heinlein und ich haben Versuche mit Farbstofflösungen an der Kaninchen- und Meerschweinchenhaut und -schleimhaut unternommen und feststellen können, daß die Farbstoffteilchen nach Beifügung von Hyaluronidase diffundieren und in tieferen Schichten der Haut bzw. Schleimhaut histologisch nachweisbar sind.

Experimentell und therapeutisch war bisher die Hyaluronidase lediglich zur Verbesserung der subcutanen oder intramuskulären Resorptionsverhältnisse angewandt worden. Resorptionsversuche an der unverletzten Haut und Schleimhaut zeigen aber, daß Insulin in Verbindung mit Hyaluronidase auf die menschliche Haut oder Schleimhaut gebracht zur Blutzuckersenkung führt. Über die ersten diesbezüglichen Versuche habe ich zusammen mit Heinlein in Nr. 13 der Münchner Medizinischen Wochenschrift 1951 kurz berichtet.

Nachdem bei den verschiedensten percutanen und rectalen Anwendungsversuchen mit Insulin-Hyaluronidase am Menschen sich manche Schwierigkeiten ergaben, habe ich die Versuche zunächst an normalen und an alloxandiabetischen Kaninchen fortgeführt. Die Blutzuckerbestimmungen wurden nach Hagedorn-Jensen durchgeführt. Die erforderlichen Insulin- und Hyaluronidasemengen wurden dankenswerterweise von den Höchster Farbwerken überlassen. Die Suppositoren und Pulververreibungen wurden im chemischen Laboratorium Dr. med. et phil. Funck, Remagen, hergestellt, wofür auch an dieser Stelle besonders gedankt sei.

I. Die Ergebnisse bei gesunden Tieren.

Zunächst wurde eine Serie von 10 gleichalten und ungefähr gleich schweren (in Mittel 2 kg schweren) grauen Hasenkaninchen unter denselben Umweltbedingungen gehalten und bei diesen an mehreren Tagen hintereinander nach 12stündiger Nahrungskarenz vormittags 6mal der Nüchternblutzucker in stündlichen Abständen bestimmt. Die Werte liegen bei den einzelnen Tieren verschieden hoch, sie schwanken etwa zwischen 80 und 150 mg% und liegen im Mittel etwa um 120—130 mg%. Es wurden immer wieder die Nüchternwerte in stündlichen Abständen über Tage hin vor, zwischen und nach den Insulinversuchen bestimmt, um eine möglichst gründliche Kenntnis der normalen Blutzuckerschwankung bei den verschiedenen Tieren zu gewinnen. Aus Raummangel wird auf Mitteilung dieser normalen Werte verzichtet.

A. Versuche mit rectaler Applikation.

Nach 12stündiger Nahrungskarenz erhielten die Versuchstiere am 17. 9. 51 morgens ein Suppositorium mit 40 E Insulin + 80 E Hyaluronidase in das Rectum eingeführt. Der Anus wurde durch eine die äußere Haut zusammenkneifende Michelsche Klammer verschlossen. Bei 6 Tieren war nach 1 Std die Klammer durch Biß entfernt und das Zäpfchen entleert worden. Bei diesen Tieren zeigen sich keine Senkungen der Blutzuckerwerte. Bei den übrigen 4 Tieren hingegen treten deutliche Senkungen des Blutzuckers auf, im Mittel um 39,17 % des Ausgangswertes, wie Tab. 1 zeigt.

Tabelle 1. *Blutzuckerwerte in mg% nüchtern und in stündlichen Abständen nach Gabe eines Suppositoriums mit 40 E Insulin — 80 E Hyaluronidase am 17. 9. 1951 sowie nüchtern und in stündlichen Abständen nach Gabe eines Suppos. mit 40 E Insulin ohne Hyaluronidase am 19. 9. 1951.*

am 17. 9. 1951

Tier-Nr.	nücht.	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	%
2	122	105	107	107	*74*	102	39,8
4	94	102	96	*63*	100	102	33,1
5	102	109	118	*60*	105	91	41,0
10	117	102	141	*67*	108	115	42,8

Senkung im Durchschnitt = *39,17*%

am 19. 9. 1951

Tier	nücht.	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
2	114	140	136	164	132	153
4	130	123	117	123	129	123
5	139	133	119	112	133	137
7	87	83	97	79	97	78
8	101	103	96	110	103	115
9	102	128	88	102	84	86
10	117	103	97	118	100	102

2 Tage später erhielten die gleichen Tiere unter denselben Bedingungen ein Suppositorium mit 40 E Insulin *ohne* Hyaluronidase. Wie aus Tab. 1 ersichtlich ist, sind eindeutige Blutzuckersenkungen auch bei den Tieren, die das Zäpfchen im Darm behielten, nicht zu verzeichnen.

Tabelle 2. *Blutzuckerwerte in mg% nüchtern und in stündlichen Abständen nach Gabe eines Suppositoriums mit 40 E Insulin + 80 E Hyaluronidase am 24. 9. 1951 und Nüchternblutzuckerwerte stündlich am 26. 9. und 1. 10. 1951.*

am 24. 9. 1951

Tier	nücht.	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	%
3	105	107	111	98	*53*	75	49,5
4	111	105	87	66	*58*	60	47,8
5	98	103	96	98	90	*69*	30
6	102	114	82	*60*	75	69	41,1
8	105	86	87	78	*68*	85	35,0
9	110	73	89	85	*64*	80	42,0
10	105	96	87	83	*66*	78	37,25

am 26. 9. 1951

Tier	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
3	101	107	36	39	129	75
4	78	100	82	102	109	111
5	100	103	45	63	107	100
6	116	86	39	76	74	92
8	94	92	90	56	85	99
9	77	73	68	74	72	60
10	94	86	97	79	90	92

am 1. 10. 1951

Tier	1h	2h	3h	4h	5h	6h
3	71	117	87	80	93	98
4	91	87	85	94	94	91
5	96	91	60	98	87	81

Senkung im Durchschnitt = *40,38*%.

Am 24. 9. 51 erhielten die Tiere nochmals ein Suppositorium mit 40 E Insulin mit 80 E Hyaluronidase. Das Resultat des Versuches ist aus

Tab. 2 ersichtlich. Diesmal hatten nur 3 Tiere die Klammer entfernt und das Zäpfchen ausgestoßen. Bei diesen findet sich keine wesentliche Blutzuckersenkung. Bei den anderen Tieren treten zum Teil erhebliche Blutzuckersenkungen auf, maximal bis 49% des Ausgangswertes, im Durchschnitt um 40, 38% des Ausgangswertes. Zur Kontrolle wurden 2 und 8 Tage später bei den Tieren nochmals die Nüchternblutzuckerwerte bestimmt, wobei vor allem bei den Bestimmungen nach 2 Tagen die im Durchschnitt niedrig liegenden Werte auffallend sind (Tab. 2).

B. Versuche mit percutaner Applikation.

Am 2. 10. 51 wurde bei 5 Tieren ein Versuch mit Einreibung eines Pulvers, das 40 E Insulin + 80 E Hyaluronidase enthielt, in die rasierte Oberschenkelhaut unternommen. Die Haut wurde unter sorgfältiger Vermeidung von Verletzungen in einer Ausdehnung von ungefähr 4 × 4 cm rasiert, mit physiologischer Kochsalzlösung angefeuchtet und das aufgestreute Pulver mit dem mit Gummihandschuh versehenen Finger unter ganz leichtem Massieren eingerieben. Im Durchschnitt war die Substanz in 3—5 min resorbiert. Wie aus Tab. 3 ersichtlich ist, traten Senkungen

Tabelle 3. *Blutzuckerwerte in mg% nüchtern und in stündlichen Abständen nach Einreibung von 40 E Insulin + 80 E Hyaluronidase in die rasierte Oberschenkelhaut am 2. 10. 1951 sowie Nüchternwerte in stündlichen Abständen am 3. und 5. 10. 51.*

am 2. 10. 1951								am 3. 10. 1951							am 5. 10. 1951						
Tier	nüchtern	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	%	Tier	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	Tier	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
1	90	57	52	59	*30*	55	66	1	61	72	28	61	45	54	1	86	107	93	102	98	114
2	86	91	75	*68*	91	93	21	2	57	88	72	73	43	63	2	93	103	90	92	96	112
3	83	63	*52*	70	57	84	37,3	3	72	—	66	48	63	86	3	107	100	82	101	88	90
4	97	84	91	*48*	59	54	50,5	4	43	70	55	66	43	73	4	96	79	107	95	86	107
5	94	78	83	*64*	67	70	32	5	—	86	79	65	72	—	5	98	95	102	112	105	111

Senkung im Durchschnitt = *41,36*%.

des Blutzuckers bis 30 mg% ein, die zum Teil mit deutlichen Schockerscheinungen einhergingen. Im Mittel bestand eine maximale Blutzuckersenkung um 41,36% des Ausgangswertes. Nüchternbestimmungen am folgenden Tage zeigten zum Teil ganz auffallend niedrige Blutzuckerwerte bei den in ihrem Allgemeinbefinden deutlich gestörten, schreckhaften und zum Teil unter leichten Krampfzuständen leidenden Tieren. 3 Tage nach der Einreibung waren die Nüchternwerte praktisch wieder normal (Tab. 4). Um Zufälligkeiten auszuschalten und unter gleichen Witterungsbedingungen möglichst exakte Werte zu erhalten, wurde bei Tier 6—10 am 4. und 8. 10. 51 nochmals in stündlichen Abständen der Nüchternblutzucker bestimmt. Auf Mitteilung der normal hohen Werte wird aus Raummangel verzichtet. Am 9. 10. 51 wurden dann die Tiere 6

bis 9 mit dem gleichen Insulin-Hyaluronidasegemisch in der gleichen Weise eingerieben, wie beim Vorversuche die Tiere 1—5. Tier 10 wurde nicht eingerieben, sondern diente als Kontrolltier. Nach den Einreibungen traten wieder deutliche Senkungen des Blutzuckers auf, deren tiefste Werte 2—3 Std nach der Einreibung lagen, wobei im Mittel eine maximale Senkung von 44,8% des Ausgangswertes beobachtet wurde (Tab. 4). An den beiden folgenden Tagen wurden wieder in stündlichen Abständen die Blutzuckerwerte bestimmt, um eine etwaige längerdauernde Insulinwirkung zu erfassen, die diesmal im ganzen aber nicht so auffallend wie beim vorigen Versuch war.

Tabelle 4.

Blutzuckerwerte in mg% nüchtern und stündlich nach Einreibung in die Haut von 40 E Insulin + 80 E Hyaluronidase bei Tier 6—9, Tier 10 ohne Einreibung am 9. 10. 1951.

am 9. 10. 1951

Tier	nüchtern	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	%
6	102	79	*69*	76	86	119	32,3
7	98	91	86	*57*	71	81	42
8	100	126	81	*32*	65	86	68
9	112	103	75	*71*	92	112	37

Senkung im Durchschnitt = *44,82%*

Am 23. 10. 51 wurden die Tiere 6—10 mittels Einreibung nochmals in der gleichen Weise wie bei den Vorversuchen behandelt. Tier 5 Kontrolltier. Man erkennt wiederum deutliche Senkungen des Blutzuckers, wobei die maximalen Senkungswerte wieder 2—4 Std nach der Einreibung eintraten. Im Mittel betrug der maximale Senkungswert 31,94% des Ausgangswertes. (Aus Raummangel nicht mitgeteilt.) Kontrolluntersuchungen am folgenden Tag zeigen bei der Mehrzahl der Tiere wieder im ganzen niedrigere Nüchternwerte als am 2. Tage nach der Einreibung und als an den Tagen vor der Einreibung.

Um einen Vergleich zur subcutanen Insulinwirkung beim Kaninchen zu erhalten, wurden am 17. 10. 51 Tier 1 und 2 mit dem beschriebenen Insulin-Hyaluronidasegemisch percutan behandelt, Tier 3 und 5 erhielten je 5 E Altinsulin subcutan gespritzt. Bei dem eingeriebenen Tier 1 betrug nach 3 Std der Blutzucker 54 mg%. Es traten leichte krampfartige Zuckungen auf. Nach 4 Std betrug der Blutzucker 28 mg%, dabei bestanden erhebliche tonisch-klonische Krämpfe, die erst nach i. v. Injektion von 20 cm^3 10%iger Glucoselösung abklangen. Bei Tier 2 betrug nach 1 und 2 Std der Blutzucker 61 mg%. Deutliche Schocksymptome traten nicht auf.

Bei Tier 3 und 4 traten nach 2 Std schwere Schocksymptome auf. Bei Tier 3 betrug der niedrigste Blutzucker nach 2 Std 15 mg%. Besserung nach i. v. Glucoseinjektion, anschließend spontan Haferfressen. Bei Tier 4 trat unter dem Versuch einer i. v. Glucoseinjektion der Exitus letalis im Schock auf. Der letzte Blutzucker betrug 10 mg%.

Die stündlichen Blutzuckerwerte am folgenden Tage lagen im Mittel bei den beiden eingeriebenen Tieren etwas niedriger als bei dem noch lebenden gespritzten Tier und auch bei dem Kontrolltier. Die Reaktion bei den beiden Tieren, die subcutan Insulin erhalten hatten, erschien auffallend stark. Es lag deshalb der Gedanke nahe, daß vielleicht durch die mehrfachen, vorhergegangenen Insulinversuche eine Sensibilisierung eingetreten sein könne oder eine Glykogenverarmung des Organismus. Aus diesem Grunde erhielten am 22. 10. 51 die Tiere 5 und 10, die bisher meist als Kontrolltiere gedient hatten, je 5 E Insulin subcutan gespritzt. Dabei zeigte sich in der Tat, daß bei diesen Tieren die hypoglykämisierende Wirkung weniger stark war. Der niedrigste Blutzucker bei Tier 5 betrug 40 mg% nach $2\frac{1}{2}$ Std. Es traten leichte hypoglykämische Erscheinungen, keine Krämpfe auf, die nach spontanem Haferfressen ohne Glucoseinjektion zurückgingen. Bei Tier 10 betrug nach $2\frac{1}{2}$ Std der niedrigste Blutzucker 46 mg%, wobei hypoglykämische Erscheinungen einsetzten, die i. v. Glucosezufuhr notwendig machten und dann langsam abklangen. Am folgenden Tage wurden bei beiden Tieren wiederum Nüchternblutzuckerbestimmungen durchgeführt, die normale Werte zeigten. Tier 10 wurde anschließend an die erste Blutzuckerbestimmung mit dem Insulin-Hyaluronidasegemisch eingerieben, zeigte aber keine stärkere Reaktion als die übrigen gleichzeitig eingeriebenen Tiere.

II. Die Ergebnisse bei alloxandiabetischen Tieren.

Nach Abschluß der Versuche bei normalen Kaninchen wurden Versuche mit Einreibung von Insulin + Hyaluronidase bei diabetischen Tieren vorgenommen. Zunächst wurde bei mehreren Tieren ein Alloxan-Diabetes erzeugt.

Am 29. 10. 51 erhielten Tier 1, 2, 3, 5, 6 und 7 je nach Gewicht 400—500 mg Alloxan intravenös injiziert. Die Tiere reagierten in der üblichen Weise. Nach vorübergehender Hypoglykämie stellte sich ein Diabetes ein: Am 31. 10. 51 schwankte bei den Tieren der Blutzucker zwischen 210 und 260 mg% bei einer Tagesglykosurie von 6—9 g. Am 1. 11. 51 schwankten die Blutzucker zwischen 400 und 600 mg% bei Glykosurien von 4—10 g im 24-Std-Harn und ziemlich starker Ketonurie. Am 2. 12. 51 schwankten die Blutzucker zwischen 200 und 300 mg% bei ähnlichen Harnwerten wie an den Vortagen. Tier 1 erhielt am 5. 12. 51 nochmals 100 mg Alloxan nachgespritzt, da der Diabetes langsam zurückgegangen war.

Am 9. 1. 52 lebten noch die Tiere 1, 6 und 7. Bei diesen bestand jetzt ein manifester Diabetes. Der Nüchternblutzucker schwankte bei täglichen Kontrollen um 200 mg% bei einer 24-Std-Glykosurie von mehreren Gramm. Keine Ketonurie.

Tab. 5 zeigt die Nüchternblutzuckerwerte in mg% am 9. 1. 52:

Tabelle 5.

Tier	10 h	12 h	14 h	15 h	16 h
1	194	189	180	192	189
6	215	195	184	180	192
7	209	202	187	188	196

Am 10. 1. 52 wurden die Tiere in der üblichen Weise mit 40 E Insulin + 80 E Hyaluronidase in die rasierte Oberschenkelhaut eingerieben. Tab. 6 zeigt die Blutzuckerwerte in mg% nüchtern und 1½, 4, 5½ und 7 Std nach der Einreibung.

Tabelle 6.

Tier	nüchtern	1½ h	4 h	5½ h	7 h
1	194	174	73	119	78
6	190	183	143	85	121
7	187	187	84	130	173

Es findet sich also nach der Einreibung eine deutliche Senkung des Blutzuckers bei allen 3 Tieren auf normale Werte.

An den folgenden Tagen betrugen die Nüchternblutzuckerwerte, wie Tab. 7 zeigt:

Tabelle 7.

Am 11. 1. 52:		Am 12. 1. 52		Am 23. 1. 52	
Tier		Tier		Tier	
1	69 mg%	1	331 mg%	1	164 mg%
6	74 mg%	6	249 mg%	6	200 mg%
7	108 mg%	7	302 mg%	7	187 mg%

Man ersieht daraus, daß am Tage nach der Einreibung bei allen 3 diabetischen Tieren noch normale Blutzuckerwerte bei Zuckerfreiheit des Harns bestanden, während am übernächsten Tage und 11 Tage später vorgenommene Kontrollen wieder diabetische, hohe Nüchternblutzuckerwerte mit Glykosurie bei allen Tieren ergaben.

Am 30. 1. 52 wurden die Tiere erneut mit der gleichen Menge Insulin + Hyaluronidase eingerieben mit folgendem Resultat (Tab. 8):

Tabelle 8.

Tier	nüchtern	2 h	4 h	6 h
1	286	91	111	70
6	272	228	188	187
7	191	146	89	156

Man ersieht daraus, daß bei Tier 1 und 7 wieder eine Blutzuckersenkung auf normale Werte eingetreten ist, während diesmal bei Tier 6 nur eine geringe Wirkung vorliegt. Am folgenden Tage betrugen die Nüchternblutzuckerwerte bei Tier 1 207 mg%, bei Tier 6 183 mg%, bei Tier 7 166 mg%. Eine eindeutige Wirkung am folgenden Tage liegt somit diesmal nicht vor.

Wie aus den mitgeteilten Versuchen ersichtlich ist, besteht zum Teil eine gewisse Insulin-Depotwirkung, indem — wie besonders deutlich zum Teil bei den diabetischen Tieren zu erkennen ist — nicht nur über Stunden, sondern auch am nächsten Tage noch eine eindeutige Blutzuckersenkung beobachtet werden konnte. Ähnliche Beobachtungen sind in früheren Jahren nach *intra*cutanen Insulininjektionen beschrieben worden, wobei angenommen wurde, daß das Insulin zum Teil im Hautgewebe gespeichert würde und von dort verzögert zur Resorption gelange (Staub). Um diese Frage vielleicht klären zu können, wurde folgender Versuch unternommen: Bei 2 Tieren (36 und 37) wurde eine rasierte Hautstelle mit 40 E Insulin + 80 E Hyaluronidase eingerieben und fortlaufend der Blutzucker 6 Std lang nüchtern bestimmt.

Tabelle 9 (am 13. März 1952).

Tier	nüchtern	nüchtern	½ h	1 h	2 h	3 h	4½ h	6 h
36	98	90	55	63	71	125	72	81
37	84	94	58	39	58	72	56	83

Man erkennt bei beiden Tieren eine deutliche Insulinwirkung nach der Einreibung (bei Tier 37 wurde der Blutzucker um 36,5%, bei Tier 37 um 51% vom Ausgangswert gesenkt). Nach 6 Std wurde die eingeriebene Hautstelle bei Tier 36 in Narkose excidiert und über Nacht in n/10 HCl-Lösung extrahiert. Am folgenden Morgen wurde der Extrakt zur Hälfte dem Tier 37, zur anderen Hälfte einem noch nicht behandelten Tier 40 subcutan gespritzt. Die Nüchternwerte vor und in Abständen nach der Injektion zeigt Tab. 10:

Tabelle 10.

Tier	nücht.	½ h	1 h	1½ h	2 h	2½ h	3 h	3½ h	4 h	4½ h	5 h	5½ h	6 h
36	92												
37	108	108	149	148	136	83	113	111	87	78	89	103	110
40	112	124	63	117	92	67	78	62	69	82	82	112	94

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß durch die Injektion des Hautextraktes nach anfänglicher Erhöhung der Blutzuckerwerte, die man wohl als Glukagonwirkung (Bürger) auffassen muß, eine deutliche Einwirkung im Sinne einer Senkung der Blutzuckerwerte eingetreten ist. Und zwar setzte bei beiden Tieren eine über mehrere Stunden verfolgbare Senkung der Blutzuckerwerte ein, wobei bei Tier 37 die stärkste Senkung vom Nüchternwert 30 mg%, und bei Tier 40 54 mg% betrug. Der gleiche Versuch wurde bei anderen Tieren nochmals wiederholt mit ähnlichen Ergebnissen. Dagegen zeigte sich bei Vergleichsversuchen, daß nach Einspritzung eines Hautextraktes von vorher nicht mit Insulin behandelter Haut keine Einwirkungen auf den Blutzucker stattfanden.

III. Die Erörterung der Befunde.

Aus den mitgeteilten Tierversuchen ist zu ersehen, daß mit Hilfe des permeabilitätsfördernden Fermentkomplexes Hyaluronidase eine deutliche permuköse und percutane Insulinwirkung erzielt werden kann. Die Versuche mit Insulin-Hyaluronidase-haltigen Suppositorien sind freilich in ihrem Ergebnis schwer zu bewerten wegen der verschiedenen Unsicherheitsfaktoren, die hier mitspielen. Vor allem wird niemals sicher festzustellen sein, wie groß der tatsächlich resorbierte Anteil des Insulins ist und wieviel des Insulin-Hyaluronidasegemisches des im einzelnen Falle in der Suppositorienmasse oder im etwa im Enddarm vorhandenen Kot retiniert wird. Dieser Unsicherheitsfaktor belastet auch die bisher von uns angestellten Versuche mit Suppositorien beim Menschen, so daß schon jetzt gesagt werden kann, daß eine rectale Insulinbehandlung des Diabetikers wegen der Unsicherheit der Dosierung voraussichtlich nicht durchführbar sein wird. Eindeutige, wenn auch schwankende Insulinwirkungen sind aber nicht nur im Tierversuch, sondern auch — worauf hier nicht näher eingegangen werden soll — beim gesunden und zuckerkranken Menschen vorhanden.

Sicherer und gleichmäßiger sind die Resultate bei percutaner Applikation eines Insulin-Hyaluronidasegemisches in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Auf die Salbenapplikation wurde bewußt verzichtet, um den Unsicherheitsfaktor auszuschließen, der darin liegt, daß ein Teil der wirksamen Substanzen in der Salbengrundlage gebunden bleibt bzw. daß diese letztere selbst unter Umständen die Epidermis undurchlässig macht. Versuche mit verschiedenen salben- und sirupartigen Stoffen ließen zu diesem Schluß kommen.

Bei Übertragung der Resultate, die beim Kaninchen gewonnen wurden, auf die Verhältnisse beim Menschen ist freilich größte Zurückhaltung am Platze, vor allem deshalb, weil die Hautbeschaffenheit und damit die Resorptionsverhältnisse beim Kaninchen durchaus andere als beim Menschen sind, wobei schon jetzt darauf hingewiesen werden kann, daß beim Menschen mit der permukösen Applikation bessere Ergebnisse erzielt werden können. Sicher aber ist, daß beim Kaninchen eine percutane Insulinwirkung mit Hilfe von Hyaluronidase erreicht werden kann, wie sie bisher ohne Zusatz dieses Fermentes noch nicht einwandfrei beobachtet worden ist.

Literatur.

Bailey, C. G., and O. T. Bayley: J. Amer. Med. Assoc. **122**, 1165 (1943. — Banting, F., and C. Best: J. Labor. a. Clin. Med. **7**, 251 (1922). — Bertram, F.: Die Zuckerkrankheit. 3. Aufl. Stuttgart 1947. — Boller, R.: Diabetes mellitus. Wien 1950; hier auch neuere Literatur. — Brahn, B.: Lancet **I**, 824 (1940). — Brahn, B., u. Lengner: Tijdschr. Geneesk. 1939. — Braun, O., u. G. Weber: Klin. Wschr. **29**, 504 (1951). — Bresgen, C., u. H. Heinlein: Münch. med. Wschr.

93, 13 (1951). — Bürger, M., u. W. Brandt: Z. exper. Med. **96**, 375 (1935). — Chain, E., and E. S. Duthie: Brit. J. Exper. Path. **21**, 324 (1940). — Chambers, R., and B. W. Zweifach: Physiologic. Rev. **27**, 436 (1947). — Depisch, F.: Erg. inn. Med. **48** (1935). — Depisch, F., u. G. Zuelzer: Z. exper. Path. u. Ther. **5**, 307 (1908). — Duran-Reynals, F.: J. exper. Med. **50**, 327 (1929). — Bact. Rev. **6**, 197 (1942). — C. r. Soc. Biol. Paris **99** (1928). — Dunn, I. S., H. C. Sheehan and N. B. McLetchie: Lancet **I**, 484 (1943). — Elster, S. K., M. E. Freemann and A. Dorfmann: Amer. J. Physiol. **156**, 429 (1949). — Ferner, H.: Klin. Wschr. **31/32**, 481 (1948); **23/24**, 397 (1951). — Ferner, H., K. Gaede u. H. Kastrup: Klin. Wschr. **23/24**, 388 (1950). — Ferner, H., u. K. Gaede: Klin. Wschr. **35/36**, 621 (1950). — Freudenberg, K.: Z. physiol. Chem. **233**, 159 (1935). — Freudenberg, K., u. A. Münck: Z. physiol. Chem. **263**, 1 (1940). — Grevenstück, A., u. E. Laqueur: Erg. Physiol. **23/II** (1925). — Hanzlik and Cutting: Endocrinology **28**, 368 (1941). — Hermann, S., u. H. Kassowitz: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **179**, 524, 529 (1935). — Jakobls, H. R.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **37**, 407 (1937). — Lasch, F.: Biochem. Z. **297**, 244 (1938). — Wien. klin. Wschr. **62**, 170 (1950). — Lasch, F., u. Schönbrunner: Klin. Wschr. **34** (1938). — MacLeod, J. J. R.: Kohlehydratstoffwechsel und Insulin; ins Deutsche übertragen von H. Gremels. Berlin 1927. — Malten, H.: Münch. med. Wschr. **1954** (1931). — Meyer, K.: Physiologic. Rev. **27**, 335 (1947). — Meyer, K., R. Dubos and E. M. Smyth: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **34**, 816 (1936). — Meyer, K., G. L. Hobby, E. Chaffee and M. H. Dawson: J. of Exper. Med. **71**, 137 (1940). — Meyer, K., and J. W. Palmer: J. of Biol. Chem. **107**, 629 (1943). — Meyer, K., E. M. Smyth and M. H. Dawson: J. of Biol. Chem. **128**, 319 (1939). — Seifter, J.: Amer. N.Y. Acad. Sci. **52**, 1141 (1950). — Staub, H.: Insulin. 2. Aufl. Berlin: Springer 1925. — Erg. inn. Med. **31** (1927). — Tennenbaum, M.: Münch. med. Wschr. **1931**, 748. — Wilkowitz, K., u. F. Lenuweit: Z. klin. Med. **1222**, 621 (1932). — Wuhrmann, F.: Schweiz. med. Wschr. **2**, 787 (1939).

Dr. Carl Bresgen, Innere Abteilung des Krankenhauses St. Josef, Koblenz-Ehrenbreitstein.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 217, S. 550—559 (1953).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Der Einfluß ganglienblockierender Mittel auf mehrere, insbesondere durch Kohlensäure ausgelöste Kreislaufreaktionen.

Von

FRITZ HEIM und HERMANN WAGNER.

Mit 1 Textabbildung (in 4 Einzeldarstellungen).

(Eingegangen am 26. September 1952.)

Versuche von FREYBURGER, GRUHZIT, RENNICK u. MOE an spontan atmenden Hunden haben ergeben, daß die Blutdrucksteigerung, die als Folge einer durch Rückatmung der Ausatmungsluft in einem geschlossenen kleinen System erzeugten Asphyxie auftritt, durch Tetraäthylammonium (TEA) nicht aufzuheben ist. In vier Versuchen an Katzen wurde dagegen die durch Asphyxie hervorgerufene Drucksteigerung in zwei Fällen unterdrückt und in den beiden anderen Versuchen abgeschwächt. Die Autoren schließen aus den Versuchsergebnissen an Hunden, daß im Gegensatz zu den der physiologischen Kreislaufsteuerung dienenden sympathischen Bahnen, die durch TEA blockierbar sind, im Notfall zentrale Erregungsimpulse auf sympathischen Bahnen, die durch TEA nicht zu unterbrechen sind, zum Kreislaufsystem geleitet werden.

Zur Differenzierung der bei einer Asphyxie zur Blutdrucksteigerung führenden Reizqualitäten haben wir in unseren Versuchen zwecks Ausschaltung des Atmungszentrums die Tiere fortlaufend künstlich beatmet und getrennt die Wirkung des reinen Sauerstoffmangels, der Kohlensäure bei ausreichender Sauerstoffversorgung und die Wirkung von CO_2 bei Sauerstoffmangel auf den Kreislauf vor und nach steigenden Dosen des ganglienblockierenden Mittels Pendiomid untersucht. Um außerdem entscheiden zu können, in welcher Stärke und in welcher Reihenfolge die ganglionären Synapsen einzelner vegetativer Nerven durch steigende Dosen eines ganglienblockierenden Mittels zu beeinflussen sind, haben wir noch den Veratrin- und Karotissinusentlastungsreflex geprüft und neben diesen Reflexen durch elektrische Reizung der präganglionären Fasern des rechten Halssympathicus und Registrierung der Nickhautkontraktionen die Blockierbarkeit des Ganglion cerv. sup. und durch elektrische Reizung des rechten peripheren Vagusstumpfs und Registrierung der Änderungen von Blutdruck und Herzfrequenz die Blockierbarkeit parasympathischer ganglionärer Synapsen untersucht.

Methodik.

Die Versuche wurden an künstlich beatmeten Katzen durchgeführt, die als Narkoticum 80 mg/kg Chloralose i.m. erhielten. Der Blutdruck wurde mittels eines Quecksilbermanometers in der Art. femoral., die Herzfrequenz mittels eines im Nebenschluß befindlichen Membranmanometers gemessen. Gleichzeitig wurden die isotonischen Kontraktionen der Nickhaut des rechten Auges registriert. Die Höhe der Nickhautkontraktionen wurde durch die Hebelübertragung verzehnfacht. Der rechte vom Vagus isolierte Halssympathicus wurde durchtrennt und peripher davon mit Wechselströmen von 40—50 Hertz 30 sec lang gereizt. Ebenso wurde nach Durchtrennung des rechten Vagus der periphere Stumpf am Hals mit stets 5 sec Reizdauer elektrisch gereizt.

Die Tiere wurden aus einem Spirometer mit Luft beatmet. Schon nach kurzer Zeit unterblieb beim Abstellen der Atmungspumpe jede spontane Atemtätigkeit. Bei der Stickstoffbeatmung wurde das Krogh'sche Spirometer zur Verdrängung der Luft aus dem Atmungssystem 6mal mit reinem Stickstoff gefüllt und die Kohlensäure der Ausatmungsluft in dem mit Natronkalk gefüllten Spirometereinsatz absorbiert. Zur Kohlensäurebeatmung wurde der im Spirometer enthaltenen Luft aus einem zweiten Spirometer CO_2 in der gewünschten Menge zugesetzt. Sie betrug in fast allen Versuchen 3% Kohlensäure in der Atmungsluft. Die Kohlensäure- und Stickstoffbeatmung und die durch Stillstand der Atempumpe erzeugte Apnoe dauerten stets 3 min. Die Entfernung beider Nebennieren während des Versuchs geschah von der Bauchseite her.

Untersucht wurde hauptsächlich das Pendiomid (Pentamethyl-diäthyl-azapentylen-diammonium-dibromid), das nach Angaben von Bein u. Meier eine stärkere und längere anhaltende Wirkung besitzt als das TEA. Schließlich wurde in mehreren Versuchen im Anschluß an Pendiomid Nicotin bzw. Yohimbin gegeben.

Versuche.

Der Einfluß von Pendiomid auf Kreislaufreflexe und die elektrische Reizung präganglionärer vegetativer Nerven an Katzen mit intakten Nebennieren.

Die in Abb. 1a und b wiedergegebenen Versuchsausschnitte an einer Katze mit intakten Nebennieren zeigen den Einfluß einer kleinen Pendiomiddosis auf die von uns geprüften Kreislaufreflexe und präganglionären elektrischen Nervenreize. Wie aus dem in Abb. 1a wiedergegebenen Vorversuch hervorgeht, steigt während der Beatmung mit einem Gemisch von Luft und 3% CO_2 der Blutdruck an. Während des Stillstands der Beatmungspumpe sinkt nach einem primären Anstieg der Blutdruck unter den Ausgangswert ab und steigt mit Wiedereinsetzen der Beatmung, wohl infolge der durch die vorausgegangene Hypoxie hervorgerufenen Sensibilisierung des Vasomotorenzentrums gegenüber Kohlensäure, stark an. Die Herzfrequenz fällt während des Pumpenstillstands ab und bleibt auch während des mit Wiedereinsetzen der Atmung auftretenden Druckanstiegs unter den Ausgangswerten. Diese Bradykardie ist als eine zentral ausgelöste Vaguswirkung auf das Herz aufzufassen. Während der zur Erzielung einer reinen Hypoxie durchgeführten Stickstoffbeatmung ist die während und im Anschluß an die Stickstoffbeatmung auftretende Drucksteigerung geringer und vor allem kürzer

als die während und im Anschluß an den Pumpenstillstand beobachtete Blutdrucksteigerung. Auch während der Stickstoffbeatmung kommt es zu einer reflektorischen Bradykardie. Die elektrische Reizung des peripheren Vagusstumpfs führt zum Blutdruckabfall und zur Bradykardie.

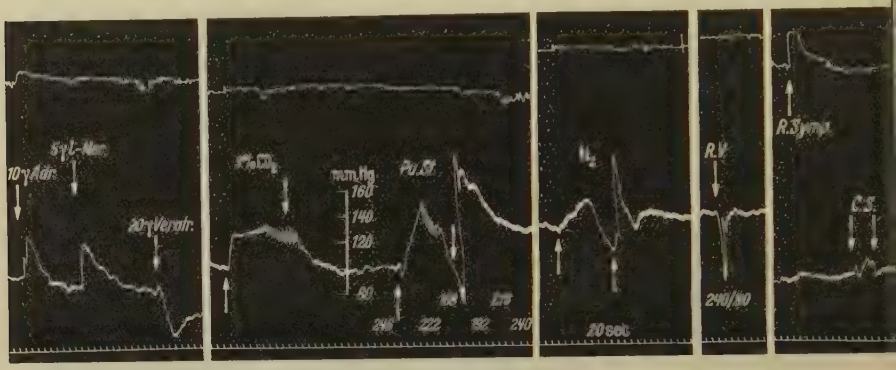


Abb. 1 a. Vor 10 mg/kg Pendiomid.

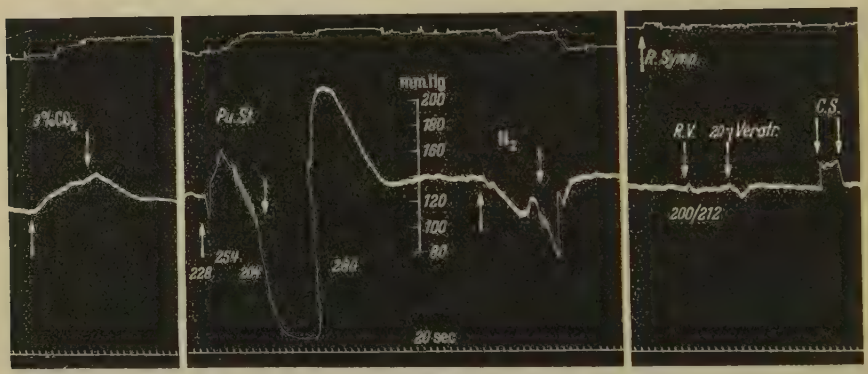


Abb. 1 b. Nach 10 mg/kg Pendiomid.

Abb. 1 a—d. Katze, 2900 g. Oben Nickhaut, Mitte Blutdruck, unten Zeit in 20 sec. *Adr.* Adrenalin, *l-Nor.* l-Noradrenalin, *Veratr.* Veratrinsulfat, *3% CO_2* Beatmung mit einem Gemisch von Luft und 3% CO_2, *Pu. St.* Stillstand der Atmungspumpe von 3 min Dauer, *N_2* Beatmung mit reinem Stickstoff (Pfeile zeigen Anfang und Ende der CO_2-, N_2-Beatmung und des Pu. St. an), *RV* elektr. Reizung des rechten peripheren Vagusstumpfs von 5 sec Dauer, *R. Symp.* elektr. Reizung des rechten Halssympathicus von 30 sec Dauer. *CS* beiderseitige Carotissinusentlastung. Die Zahlen bedeuten die Herzfrequenz.

die Reizung der präganglionären Fasern des Halssympathicus zur Nickhautkontraktion und Abklemmen beider Carotiden zur reflektorischen Blutdrucksteigerung.

Bereits nach 10 mg/kg Pendiomid i. v. ist der Vagus, wie aus Abb. 1 b hervorgeht, blockiert und der Veratrinreflex fast vollständig erloschen. Die elektrische Vagusreizung führt statt zu Blutdrucksenkung und

Bradykardie jetzt zu einem geringfügigen Blutdruckanstieg und zur Pulsbeschleunigung. Auch während und im Anschluß an den Pumpenstillstand beobachten wir, statt einer Abnahme, jetzt eine Zunahme der Herzfrequenz. Die Reaktion der Nickhaut auf elektrische Sympathicusreizung ist nur noch angedeutet. Die während und im Anschluß an die

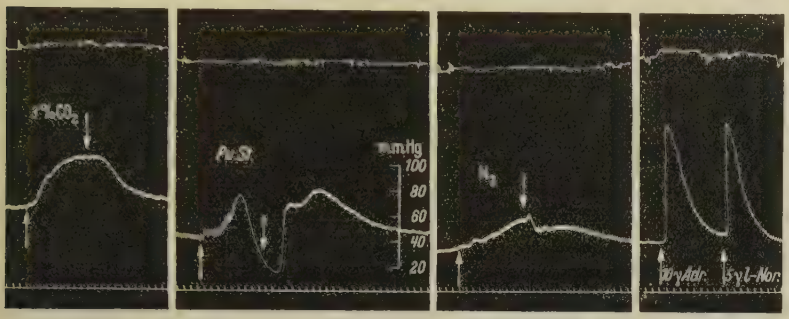


Abb. 1c. Nach Entfernung beider Nebennieren.

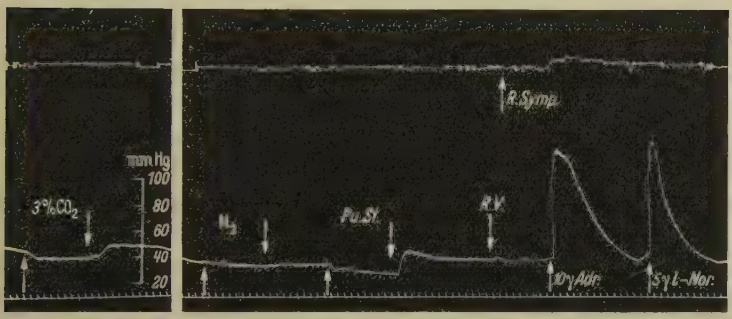


Abb. 1d. Nach Entfernung beider Nebennieren und 45 mg/kg Pendiomid.

Stickstoffbeatmung im Vorversuch beobachtete Blutdrucksteigerung ist verschwunden. Vom Pendiomid nicht beeinflußt wurden die während der Kohlensäurebeatmung und die während und im Anschluß an den Pumpenstillstand beobachtete Blutdrucksteigerung und der Carotissinusentlastungsreflex. Der während des Pumpenstillstands bzw. der Stickstoffbeatmung beobachtete Blutdruckabfall wurde durch Pendiomid verstärkt.

Die Mittelwerte der verschiedenen von uns in 10 Versuchen vor, nach 9 mg/kg, 18 mg/kg und 38 mg/kg Pendiomid gemessenen Größen wurden in Tab. 1 zusammengestellt. Spalte 4 der Tabelle zeigt, daß der unmittelbar der intravenösen Pendiomidinjektion folgende Blutdruckabfall mit steigender Pendiomiddosis geringer wird. Wie aus Spalte 3 hervorgeht,

die den aus der gesamten Meßperiode sich ergebenden mittleren Blutdruck wiedergibt, erholt sich nach 9 und 18 mg/kg Pendiomid der Blutdruck jedoch wieder weitgehend. Die unter der CO_2-Beatmung auftretende Drucksteigerung nimmt mit steigender Pendiomiddosis bis auf den doppelten Wert zu. Die während des Stillstands der Atempumpe auftretende maximale Drucksteigerung wird durch Pendiomid unabhängig von der gegebenen Dosis etwas vermindert. Im Gegensatz dazu

Tabelle 1. *Der Einfluß steigender Pendiomiddosen auf die durch Kreislaufreflexe, die elektrische Reizung des Vagus, Adrenalin und Noradrenalin hervorgerufenen Änderungen des Blutdrucks und auf die durch elektrische Reizung des Halssympathicus ausgelöste Nickhautkontraktion. Mittelwerte aus 10 Versuchen an Katzen mit intakten Nebennieren. Blutdruck in mm Hg, Nickhautkontraktion in mm Hebelausschlag.*

Pendiomid mg/kg	Zeit nach i. Pendiomidgabe in min	Mittl. Blutdruck	Änderungen des Blutdrucks: unmittelbar nach Pendiomid	CO_2-Beatmung	Pumpenstillstand während	Pumpenstillstand nach	N_2-Beatmung während	N_2-Beatmung nach	Veratrin 20—50 γ	Vagus-Reizung	CS-Entlastung	Adrenalin 10—25 γ	Noradrenalin 5—10 γ	Nickhaut-Kontrakt
vor	—	118	—	18	30	32	20	5	— 40	— 44	31	27	33	37
9	0	114	— 59	22	22	47	— 2	17	— 1	0	10	70	81	8
18	80	103	— 25	27	28	63	— 13	19	— 6	7	10	75	92	4
38	140	83	— 9	36	26	71	— 12	20	— 4	5	10	94	107	5

nimmt die mit Wiedereinsetzen der Beatmung auftretende Drucksteigerung mit steigender Pendiomiddosis erheblich zu. An Stelle der unter Stickstoffbeatmung im Vorversuch beobachteten Drucksteigerung kommt es nach Pendiomid zur Blutdrucksenkung. Doch nimmt die im Anschluß an die N_2-Beatmung auftretende Blutdrucksteigerung nach Pendiomid zu. Der Carotissinusentlastungsreflex und die durch elektrische Reizung des Halssympathicus ausgelöste Nickhautkontraktion werden durch 9 mg/kg Pendiomid stark abgeschwächt, lassen sich jedoch auch durch hohe Pendiomiddosen nicht vollständig unterdrücken. Der Veratrinreflex und die durch elektrische Vagusreizung ausgelöste Blutdrucksenkung werden bereits durch 9 mg/kg Pendiomid praktisch vollständig aufgehoben. Die Adrenalinwirkung steigt nach 38 mg/kg Pendiomid auf das 3,5fache, die des Noradrenalins auf das 3,2fache der Werte des Vorversuchs an.

Der Einfluß der Nebennierenentfernung und die Wirkung von Pendiomid nach Entfernung beider Nebennieren auf Kreislaufreflexe und die elektrische Reizung präganglionärer Nerven.

Bei 6 Versuchstieren wurden im Anschluß an die oben durchgeführten Untersuchungen die beiden Nebennieren entfernt. In Tab. 2 wurden die Mittelwerte der Befunde an den nebennierenlosen Katzen zusammen-

gestellt. Aus einem Vergleich der Werte vor und nach Entfernung beider Nebennieren geht hervor, daß sich die unter CO_2-Beatmung bzw. während und im Anschluß an einen Pumpenstillstand auftretenden Blutdrucksteigerungen auch nach Entfernung beider Nebennieren nicht wesentlich verändert haben. Nur die Blutdruckänderungen während und im Anschluß an die Stickstoffbeatmung zeigen nach Nebennierenentfernung geringere Abweichungen vom Ausgangswert als zuvor. Wie die

Tabelle 2. *Der Einfluß der Nebennierenentfernung und des Pendiomids auf die durch Kreislaufreflexe, Adrenalin und Noradrenalin hervorgerufenen Änderungen des Blutdrucks und auf die durch elektrische Reizung des Halssympathicus ausgelöste Nickhautkontraktion. Mittelwerte aus 6 Versuchen. Blutdruck in mm Hg, Nickhautkontraktion in mm Hebelausschlag.*

	Mittlerer Blutdruck	Änderungen des Blutdrucks									Nickhaut-Kontrakt.
		CO_2-Beatm.	Pumpenstillst. während	Pumpenstillst. nach	N_2-Beatmung während	N_2-Beatmung nach	Veratr.	CS-Entlast.	Adren.	Noradr.	
vor Nebennierenentf.	75	35	25	76	— 17	34	0	10	83	100	9
nach Nebennierenentf.	73	35	29	55	4	4	— 2	12	92	98	12
nach 37 mg/kg Pendiom.	66	28	14	43	— 1	2	0	7	90	86	8

37 mg/kg Pendiomid wurden im Mittel 95 min nach Nebennierenentfernung gegeben.

in Tab. 2 wiedergegebenen Mittelwerte zeigen, konnten nach Nebennierenentfernung mit einer mittleren Pendiomiddosis von 37 mg/kg die während der CO_2-Beatmung und während und im Anschluß an den Pumpenstillstand beobachtete Blutdrucksteigerung, der Carotissinusentlastungsreflex und die Nickhautkontraktionen abgeschwächt werden. Doch verhielten sich die 6 Tiere im einzelnen unterschiedlich. In 2 Versuchen blieb die während der CO_2-Beatmung bzw. während und im Anschluß an einen Pumpenstillstand auftretende Blutdrucksteigerung durch hohe Pendiomiddosen unbeeinflußt, in 2 Versuchen wurde sie abgeschwächt und in 2 weiteren Versuchen aufgehoben. Einer der beiden Versuche ist in Abb. 1c dargestellt. Die Abbildung zeigt, daß durch Entfernung beider Nebennieren die Blutdrucksteigerung unter CO_2-Beatmung und während und im Anschluß an einen Pumpenstillstand nicht aufzuheben ist, aber, wie aus Abb. 1d hervorgeht, nach 45 mg/kg Pendiomid verschwindet.

Die Wirkung von Nicotin und Yohimbin an den mit Pendiomid vorbehandelten Versuchstieren.

In den 4 Versuchen an nebennierenlosen Tieren, bei denen Pendiomid die durch CO_2-Reize ausgelösten Drucksteigerungen nicht aufzuheben vermochte, wurde Nicotin intravenös gegeben. Wie die in Tab. 3

zusammengestellten Mittelwerte ergeben, tritt nach 40 mg/kg Nicotin während des Pumpenstillstands eine Umkehr der Blutdruckreaktion ein. Die reaktive Blutdrucksteigerung nach Wiedereinsetzen der Beatmung ist nur wenig vermindert, in stärkerem Grad die durch CO_2-Beatmung ausgelöste Blutdrucksteigerung. Die Höhe der Nickhautkontraktionen wird durch Nicotin nicht beeinflußt.

Tabelle 3. *Der Einfluß von Nicotin auf die durch Kreislaufreflexe hervorgerufenen Änderungen des Blutdrucks und auf die durch elektrische Reizung des Halssympathicus ausgelöste Nickhautkontraktion. Mittelwerte aus 4 Versuchen an mit Pendiomid vorbehandelten nebennierenlosen Katzen. Blutdruck in mm Hg, Nickhautkontraktion in mm Hebelausschlag.*

	Mittlerer Blutdruck	Änderungen des Blutdrucks			Nickhaut-Kontrakt.
		CO_2-Beatmung	Pumpenstillstand		
			während	nach	
vor	66	64	25	70	14
nach 40 mg/kg Nicotin . . .	72	23	— 12	60	16

Tabelle 4. *Der Einfluß von Yohimbin auf die durch Kreislaufreflexe hervorgerufenen Änderungen des Blutdrucks und auf die durch elektrische Reizung des Halssympathicus ausgelöste Nickhautkontraktion. Mittelwerte aus 4 Versuchen an mit Pendiomid vorbehandelten Katzen. Blutdruck in mm Hg, Nickhautkontraktion in mm Hebelausschlag.*

	Mittl. Blutdruck	Änderungen des Blutdrucks						Nickhaut-Kontrakt.
		CO_2-Beatmung	Pumpenstillst.		CS-Entlastung	Adren.	Noradr.	
			während	nach				
vor	82	30	35	76	10	52	56	13
nach 5,6 mg/kg Yohimbin	49	— 8	— 18	2	3	7	10	2

In 4 Versuchen an Katzen mit intakten Nebennieren wurden im Anschluß an die Untersuchungen mit Pendiomid im Mittel 5,6 mg/kg Yohimbin intravenös gegeben. Wie aus Tab. 4 hervorgeht, kommt es nach Yohimbin während des Pumpenstillstands und der CO_2-Beatmung nur noch zur Blutdrucksenkung. Eine reaktive Blutdrucksteigerung im Anschluß an den Pumpenstillstand fehlt. Die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins und Noradrenalins, die Höhe der Nickhautkontraktionen und der Carotissinusentlastungsreflex sind stark abgeschwächt.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die mitgeteilten Befunde zeigen, daß an der Katze hinsichtlich der Blockierbarkeit der ganglionären Synapsen zwischen parasympathischem und sympathischem System große Unterschiede bestehen und das sympathische System für bestimmte Reizqualitäten schwer oder überhaupt nicht zu blockieren ist. Bereits durch eine mittlere Dosis von 9 mg/kg

Pendiomid wurden der über den Vagus verlaufende Veratrinreflex, die durch elektrische Vagusreizung ausgelöste Blutdrucksenkung und Bradykardie und die durch Aussetzen der Beatmung bzw. durch N_2-Beatmung hervorgerufene negativ chronotrope Herzwirkung aufgehoben. Mit der gleichen und höheren Pendiomiddosen konnten am Sympathicus der Carotissinusentlastungsreflex, die durch elektrische Reizung des Halssympathicus ausgelöste Nickhautkontraktion und in geringem Grad die mit Abstellen der Atmungspumpe einsetzende initiale Blutdrucksteigerung zwar abgeschwächt, aber nicht vollständig aufgehoben werden. Vollständig unterdrückt bzw. durch höhere Pendiomiddosen in eine Blutdrucksenkung umgekehrt wurde die zu Beginn der N_2-Beatmung bebeobachtete Blutdrucksteigerung. Als Folge einer Sympathicusblockade ist auch die während des Pumpenstillstands und der Stickstoffbeatmung nach 9 mg/kg Pendiomid in viel stärkerem Grad als im Vorversuch auftretende Blutdrucksenkung aufzufassen. Vgl. hierzu Abb. 1a und 1b. Dieser Blutdruckabfall kann nicht als reflektorisch ausgelöste verstärkte Vaguswirkung auf Herz- und Gefäßsystem angesehen werden, sondern als eine direkte Folge des Sauerstoffmangels auf Herz- und Gefäßsystem, da er nach Ausschaltung des Parasympathicus durch Pendiomid nicht verschwindet, sondern infolge der gleichzeitigen teilweisen Blockierung gegenregulatorisch wirkender sympathischer Bahnen noch verstärkt wird. Mit steigenden Pendiomidgaben verschwindet er allerdings mehr und mehr, vermutlich weil nunmehr andere durch Pendiomid nicht blockierte sympathische Bahnen gegenregulatorisch eingreifen. Verstärkt wurde durch Pendiomid die im Anschluß an den Pumpenstillstand und die N_2-Beatmung auftretende reaktive Blutdrucksteigerung und der unter CO_2 beobachtete Blutdruckanstieg. In diesen Fällen handelt es sich um eine durch Kohlensäurereize auf das Vasomotorenzentrum bzw. das Glomus caroticum reflektorisch ausgelöste Drucksteigerung, wobei die während des Stillstands der Atempumpe im Versuchstier angestaute Kohlensäure zusammen mit der sich neu bildenden das durch die vorausgegangene Hypoxie sensibilisierte Vasomotorenzentrum besonders stark erregt. Die im Anschluß an die N_2-Beatmung nach Pendiomid zunehmende Blutdrucksteigerung spricht dafür, daß die mit Wiedereinsetzen der Sauerstoffzufuhr beginnende CO_2-Bildung bereits genügt, um das durch den vorausgegangenen Sauerstoffmangel sensibilisierte Vasomotorenzentrum zu erregen. Gleichzeitig hat mit steigenden Pendiomidgaben die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins und Noradrenalins sehr zugenommen. Da diese als Überträgersubstanzen des sympathischen Systems auch die durch CO_2-Reize hervorgerufene Blutdrucksteigerung am Erfolgsorgan vermitteln, ist deren Zunahme auf die Steigerung der Wirksamkeit des Adrenalins und Noradrenalins nach Pendiomid zurückzuführen. Die Zunahme der pressorischen Wirkung des

Adrenalins und Noradrenalins betrug nach Pendiomid 350% bzw. 325%, die unter CO_2-Beatmung bzw. im Anschluß an den Pumpenstillstand beobachtete Blutdrucksteigerung wurde durch Pendiomid nur um 100% bzw. 220% gesteigert. Diese relativ geringere Zunahme des Blutdrucks unter CO_2-Reizen spricht für eine hemmende Wirkung des Pendiomids auf die ganglionären Synapsen dieser Reflexbahnen. Im Gegensatz zu allen durch CO_2-Reize ausgelösten Blutdrucksteigerungen, die durch Pendiomid eine weitere Zunahme erfuhren, wurde die zu Beginn der N_2-Beatmung aufgetretene Drucksteigerung bereits durch 9 mg/kg Pendiomid vollständig aufgehoben. Sie ist, im Gegensatz zu der nach Abstellen der Atmungspumpe einsetzenden und durch hohe Pendiomiddosen nicht vollständig blockierbaren Drucksteigerung, eine nicht durch Kohlensäure ausgelöste Blutdruckreaktion.

Wie aus Tab. 2 hervorgeht, ist die Entfernung beider Nebennieren in qualitativer Hinsicht ohne, in quantitativer Hinsicht nur von geringem Einfluß auf die durch CO_2-Reize hervorgerufenen Kreislaufreflexe. Die durch CO_2 auslösbaren Blutdrucksteigerungen kommen also beim Fehlen der Nebennieren auf rein nervösem Wege über sympathische Bahnen zustande und sind deshalb, wie aus Tab. 4 hervorgeht, durch das Sympathicolyticum Yohimbin vollständig zu unterdrücken bzw. in eine Blutdrucksenkung umkehrbar. Der Befund, daß nach Ausschaltung beider Nebennieren in 6 Versuchen zweimal durch eine weitere hohe Dosis Pendiomid die durch CO_2-Reize ausgelöste Blutdrucksteigerung zu unterdrücken war, schränkt die Annahme des Vorhandenseins bestimmter durch ganglienblockierende Mittel grundsätzlich nicht blockierbarer Bahnen ein. Da an keinem der Tiere mit intakten Nebennieren die durch CO_2-Reize hervorgerufene Blutdrucksteigerung aufgehoben wurde, vermuten wir, daß durch den Ausfall der Nebennieren*rinden*hormone der Stoffwechsel und damit die Erregbarkeit der ganglionären Synapsen so beeinflußt wird, daß nunmehr im Einzelfall eine zusätzliche große Pendiomiddosis genügt, um deren Erregbarkeit gegebenenfalls vollständig aufzuheben.

Wie aus Tab. 3 hervorgeht, konnte an mit Pendiomid vorbehandelten nebennierenlosen Tieren erst durch sehr große intravenöse Nicotindosen die während des Pumpenstillstands auftretende Drucksteigerung aufgehoben, die nach dem Pumpenstillstand einsetzende reaktive Blutdrucksteigerung dagegen nur wenig abgeschwächt werden. Stärker wurde die durch CO_2-Beatmung ausgelöste Blutdrucksteigerung herabgesetzt. Es handelt sich dabei wahrscheinlich sowohl um einen zusätzlichen ganglienblockierenden Nicotineffekt als auch, bei den hohen benötigten Nicotindosen, um die Abnahme der Erregbarkeit des Vasomotorenzentrums gegenüber CO_2, so daß schwächere CO_2-Reize nicht mehr, starke dagegen noch

teilweise wirksam sind. Gegen die erste Annahme spricht die Beobachtung, daß die Nickhautkontraktionen durch das Nicotin nicht abgeschwächt wurden.

Zusammenfassung.

Der Einfluß steigender Dosen des ganglienblockierenden Mittels Pendiomid auf die durch CO_2- und N_2-Beatmung, Atemstillstand, Carotissinusentlastung, Veratrin und elektrische Vagusreizung hervorgerufenen Veränderungen des Blutdrucks und der Herzfrequenz und auf die durch elektrische Reizung des Halssympathicus ausgelösten Nickhautkontraktionen wurde an künstlich beatmeten Katzen untersucht. Bereits durch 9 mg/kg Pendiomid wurde die Wirkung elektrischer Vagusreize und über den Vagus verlaufender Reflexe aufgehoben. Durch die gleiche Dosis wurden die zu Beginn der künstlich erzeugten Apnoe auftretende Blutdrucksteigerung, der Carotissinusentlastungsreflex und die Nickhautkontraktionen abgeschwächt. Mit steigenden Pendiomiddosen nahmen die unter CO_2-Beatmung, im Anschluß an die N_2-Beatmung und den Stillstand der Atmungspumpe auftretenden Drucksteigerungen und die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins und Noradrenalins zu. Die Entfernung beider Nebennieren war ohne stärkeren Einfluß auf diese Vorgänge. Nach Entfernung beider Nebennieren konnte in 2 Versuchen durch weitere Pendiomidgaben die durch CO_2-Reize ausgelöste Drucksteigerung vollständig aufgehoben werden, während sie in den restlichen 4 Versuchen nur abgeschwächt wurde. In ähnlicher Weise wirkten zusätzliche, große intravenöse Nicotingaben, wobei deren hemmende Wirkung auch über eine Abnahme der Erregbarkeit des Vasomotorenzentrums zustande kommen kann. Die durch CO_2-Reize ausgelösten, durch Pendiomid nicht blockierbaren Blutdruckreaktionen ließen sich durch Yohimbin unterdrücken.

Literatur.

Freyburger, W. A., C. Gruhzit, B. Rennick and G. K. Moe: Amer. J. Physiol. **163**, 554 (1950). — Bein, H., u. R. Meier: Experientia **6**, 351 (1950).

Prof. Dr. Fritz Heim, Pharmakologisches Institut der Universität Marburg/Lahn.